

Aus dem Institut für Physiologie
der Freien Universität Berlin

Experimentelle Untersuchungen zur Transmitterphysiologie der efferenten Synapsen des Cortischen Organs

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Wulf-Hinrich Storch

aus Verden

1976

Experimentelle Untersuchungen zur
Transmitterphysiologie der afferenten
Synapsen des Cortischen Organs

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Physiologie
der Freien Universität Berlin

Experimentelle Untersuchungen zur Transmitterphysiologie der efferenten Synapsen des Cortischen Organs



Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wulf-Hinrich Storch
aus Verden

Referent: Prof. Dr. Rainer Klinke

Korreferent: Prof. Dr. Helmut Kewitz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fach-
bereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 20 Februar 1976

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1. VORWORT
2. EINLEITUNG
3. ANATOMISCHE BEFUNDE
 - 3.1. Identifikation von efferenten Fasern
 - 3.2. Anatomischer Verlauf der akustischen Efferenzen
 - 3.3. Efferente Innervation der Haarzellen
4. NEUROPHYSIOLOGISCHE BEFUNDE ÜBER EFFERENTE AKTIVITÄT
 - 4.1. Meßparameter
 - 4.2. Aktivierung efferenter Fasern
 - 4.3. Efferenter Einfluß auf die Rezeptoren des Cortischen Organs, bzw. die afferenten Neurone
 - 4.4. Zur physiologischen Funktion der Olivo-cochleären Bündel
5. ZUR PHYSIOLOGIE DER INFORMATIONSTRAGUNG IN CHEMISCHEN SYNAPSEN
 - 5.1. Allgemeine Vorstellungen
 - 5.2. Kriterien bei der Frage nach dem Neurotransmitter
 - 5.3. Besondere Schwierigkeiten der Transmitterphysiologie am Cortischen Organ
 - 5.4. Zur Auswahl der Testsubstanzen
6. PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DEN EFFERENTEN SYNAPSEN DES CORTISCHEN ORGANS

- 6.1. Prüfung auf cholinerge Mechanismen
 - 6.1.1. Zur Wirkungsweise von Acetylcholin
 - 6.1.2. Die Bedeutung von Ca^{++} an cholinergen Synapsen
 - 6.1.3. Pharmakologische Eigenschaften cholinergere Synapsen
 - 6.1.4. Histochemische Befunde über Acetylcholinesteraseaktivität am Cortischen Organ
 - 6.1.5. Acetylcholin und die Wirkung pharmakologisch verwandter Substanzen am Cortischen Organ
- 6.2. Die Wirkung nichtcholinergere Pharmaka auf die efferenten Synapsen
- 7. AUSFÜHRLICHE DARSTELLUNG
EIGENER UNTERSUCHUNGEN
 - 7.1. Fragestellung
 - 7.2. Methodik
 - 7.2.1. Operationstechnik
 - 7.2.2. Die elektrische und akustische Reizapplikation
 - 7.2.3. Registrierung
 - 7.2.4. Herstellung und Applikation der Testlösungen
 - 7.3. Prüfung der Untersuchungsmethode
 - 7.4. Die Wirkung von Muskelrelaxantien auf den COCB-Effekt
 - 7.5. Die Wirkung von Ganglienblockern auf den COCB-Effekt
 - 7.6. Die Wirkung von Atropin und Muscaron auf den COCB-Effekt
 - 7.7. Die Wirkung von Hemicholin-Nr. 3 (HC-3) auf den COCB-Effekt
 - 7.8. Die Wirkung von Strychnin auf den COCB-Effekt

8. D I S K U S S I O N
9. Z U S A M M E N F A S S U N G
10. S T R U K T U R F O R M E L N
11. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1.

V O R W O R T

Die Darstellung des Stoffes wurde so angelegt, daß zunächst von den anatomischen Merkmalen der untersuchten Strukturen ausgegangen wird. Es werden dann die wichtigsten neurophysiologischen Befunde gerafft dargestellt, da die pharmakologischen Untersuchungen sich im wesentlichen an neurophysiologischen Meßparametern orientieren. Anschließend wird auf die pharmakologischen Befunde über die efferenten Synapsen des Cortischen Organs in der Literatur ausführlicher eingegangen und so die Fragestellung für unsere eigenen Untersuchungen herausgearbeitet. Die Ergebnisse bzw. die entsprechenden Schlußfolgerungen werden dann vor dem Hintergrund der bisherigen Literatur diskutiert.

Die vorliegende Arbeit wurde im Frühjahr 1974 abgeschlossen. Nur bis zu diesem Zeitpunkt erschienene Literatur konnte berücksichtigt werden.

Folgende Abkürzungen wurden benutzt:

ÄHZ	=	äußere Haarzellen
CAP	=	Summenaktionspotential
CM	=	cochleäres Mikrophonpotential
COCB	=	gekreuztes Olivo-cochleäres Bündel
EPSP	=	excitatorisches postsynaptisches Potential
HC-3	=	Hemicholinium - 3
IHZ	=	innere Haarzellen
IPSP	=	inhibitorisches postsynaptisches Potential
RCB	=	Reticulo-cochleäres Bündel
SPL	=	Schalldruckpegel
UOCB	=	ungekreuztes Olivo-cochleäres Bündel
ZNS	=	Zentralnervensystem

Bei den Mechanorezeptoren des Cortischen Organs, des Vestibularapparates und des Seitenlinienorgans der Fische handelt es sich um sekundäre Sinneszellen.

Sie sind entwicklungsgeschichtlich verwandt. Man faßt deshalb alle drei Organe unter dem Begriff Akustikus-lateralis System zusammen.

Ihre Rezeptorzellen werden sowohl afferent als auch efferent innerviert, daß heißt, es gibt :

1. Nervenfasern, die Information von den Rezeptoren zentripetal in das Zentralnervensystem liefern und
2. Nervenfasern, die Information zentrifugal aus dem Zentralnervensystem an die Rezeptorzellen leiten.

Durch Erregung der efferenten Fasern werden die Rezeptorzellen in ihrer Empfindlichkeit gegenüber dem Schallreiz verändert. Die afferente Information kann auf diese Weise moduliert werden. Da es sich bei den Rezeptoren des Akustikus-lateralis System um sekundäre Sinneszellen handelt, wird der Kontakt zwischen Rezeptorzellen und afferenten Fasern durch Synapsen hergestellt, desgleichen zwischen efferenter Faser und Sinneszelle. Daneben gibt es direkte Kontakte zwischen den efferenten Fasern und den Afferenzen. Man kann sie in Bezug auf die Bipolarzellen im Ganglion spirale als axodendritische Synapsen bezeichnen.

In chemischen Synapsen findet im Gegensatz zu sog. elektrischen Synapsen eine Informationsübertragung durch besondere chemische Substanzen, den Neurotransmittern statt.

Die Frage nach dem Transmitter der akustischen Efferenzen im Cortischen Organ, bzw. die Blockierung

seiner Wirkung durch spezifisch in den Transmitterprozeß eingreifende Pharmaka, ist das Thema dieser Arbeit.

ANATOMISCHE BEFUNDE

1. Identifikation von efferenten Fasern

Die Transmittersubstanzen der efferenten Fasern am Cortischen Organ werden sehr wahrscheinlich präsynaptisch in kleinen Bläschen, den Vesikeln gespeichert. Die Lokalisation der Vesikel ermöglicht eine elektronenoptische Differenzierung zwischen afferenten und efferenten Nervenfasern. (Cordier 1964, Engström 1958, Engström und Sjöstrand 1954, Engström und Wersäll 1958, Iurato 1961, Rodriguez Echandia 1967, 1968, Smith 1961, 1967, 1968 a + b, Smith und Dempsey 1957, Smith und Sjöstrand 1961 a + b, Spoendlin 1957, 1959, 1960, Spoendlin und Gacek 1963, Wersäll 1968, Wersäll, Flock und Lundquist 1965).

Im elektronenoptischen Bild findet man Nervenfasern, die sich mit ihrem markscheidenlosen Ende an die Sinneszelle legen und mit der Rezeptorzelle eine Synapse bilden. Das aufgetriebene Ende der Fasern ist nicht granuliert. Es enthält keine Vesikel. Jenseits des synaptischen Spaltes findet man dagegen in der Sinneszelle elektronenoptisch dichte Anteile, die " synaptic bars ". Sie sind von Vesikeln umgeben, die sehr wahrscheinlich den afferenten Transmitter enthalten. Daneben findet man granuliert vesikuläre Nervenendigungen. Durch die einseitige Verteilung ist die Richtung des Informationsflusses bestimmt. Das Vorhandensein von Vesikeln in einem Teil der Nervenfasern, die Kon-

takt mit den Rezeptorzellen haben, veranlaßte Engström (1958) zu der Annahme, daß es sich bei diesen Fasern um efferente Nervenendigungen handeln müßte.

3.2. Anatomischer Verlauf der akustischen Efferenzen

Efferente Bahnen, die das Cortische Organ versorgen, wurden zuerst von Rasmussen (1942) und (1946) beschrieben.

Efferente Fasern wurden in Degenerationsversuchen und mit histochemischen und elektronenoptischen Verfahren nicht nur bei einer Reihe von Säugetieren und beim Menschen, sondern auch bei Vögeln und dem Kaiman nachgewiesen. Zur Übersicht über die umfangreiche anatomische Literatur siehe Iurato (1967) und Klinke und Galley (1974).

Einen historischen Überblick der Erforschung des efferenten Systems am Ohr geben Rossi und Cortesina (1962 und 1965).

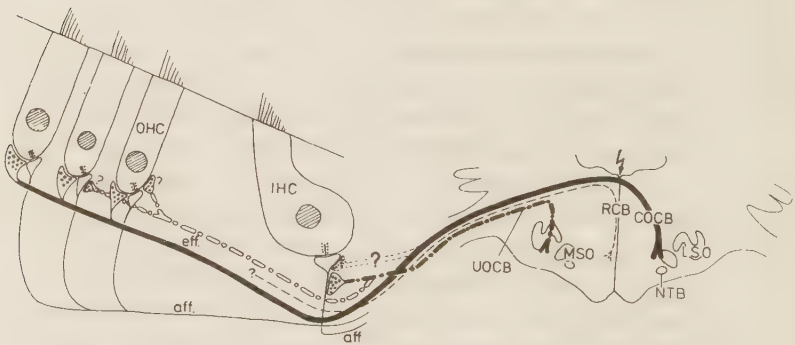


Abb.: 1

aus Klinke und Galley (1974)

Man unterscheidet drei Faserpopulationen nach ihrer Herkunft und ihrem Verlauf (siehe Abb. 1). Ipsilateral kommen efferente Nervenfasern aus dem s-förmigen Teil der oberen Olive. Kontralateral kommen sie aus medial von der accessorischen Olive liegenden Zellen. Sie "kreuzen" die Medianlinie am Boden des vierten Ventrikels. So kommt es zur Bezeichnung der ungekreuzten und gekreuzten Olivo-cochleären Bündel, kurz UOCB und COCB genannt. (Rasmussen 1946 und 1950) Beim Kaninchen, Chinchilla und der Ratte sind Fasern beschrieben worden, die von der Formatio reticularis zur Cochlea ziehen, d. sog. Retikulo-cochleäre Bündel (Rossi und Cortesina 1963, 1965, Rasmussen zit. nach Rossi 1965, Brown und Howlett 1972), die jedoch möglicherweise nur bei Nagetieren vorhanden sind.

Alle efferenten Fasergruppen verlaufen zusammen im Nervus vestibularis. In der Cortschen Anastomose wechseln sie in den Nervus cochlearis über und treten in die Cochlea ein. 75% der ca. 500 efferenten Nervenfasern am Cortischen Organ gehören zum gekreuzten Olivo-cochleären Bündel (Rasmussen 1960). Die Fasern beider Olivo-cochleären Bündel verlaufen dann in der Cochlea im intraganglionären Spiralbündel, bzw. in den inneren Spiralbündel und im Tunnelbündel. Die Endaufzweigungen der Nervenfasern lassen sich unter dem Elektronenmikroskop verfolgen. (Übersicht: Wright und Preston 1973).

Degenerationsversuche, bei denen die Olivo-cochleären Bündel durchtrennt wurden, (Iurato 1962, Kimura und Versäll 1962, Spoendlin 1962, Spoendlin und Gacek 1963, Smith und Rasmussen 1965) bewiesen endgültig den efferenten Charakter der granulierten Nervenendigungen. Durch selektive

Durchtrennung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels in der Medianebene des vierten Ventrikels in der Nähe der Facialishöcker kann man die granulierten Faserendigungen hinsichtlich ihrer Herkunft differenzieren.

Nach Durchtrennung der Olivo-cochleären Bündel findet sich auch eine Abnahme der Acetylcholinesteraseaktivität (Übersicht: Iurato, Luciano, Pannese und Reale 1971). Die histochemische Lokalisation von Acetylcholinesterase gibt also ebenfalls Auskunft über die Verteilung efferenter Innervation.

3.3. E f f e r e n t e I n n e r v a t i o n d e r H a a r z e l l e n

Die äußeren Haarzellen werden hauptsächlich von Nervenfasern des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels innerviert. Jedoch gibt es daneben auch einen kleinen Teil, der durch das ungekreuzte Bündel versorgt werden (Kimura und Wersäll 1962, und Smith 1967) . Die histochemischen Untersuchungen von Schuhknecht et.al. (1959) und weiterer Autoren unterstützen diese Befunde.

Die efferente Innervation der inneren Haarzellen ist noch nicht restlos aufgeklärt. Befunde von Iurato (1964) und Smith (1968 a) sprechen für eine ausschließliche Innervation durch das ungekreuzte Olivo-cochleäre Bündel. Wahrscheinlicher ist nach neueren morphologischen Untersuchungen von Spoendlin (1969, 1970, 1971, 1972) auch eine teilweise Innervation durch das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel.

Die Struktur der efferenten Synapsen im Cortischen Organ ist verhältnismäßig kompliziert. Ähnlich wie bei den Rezeptoren im Labyrinth von Vögeln

und Säugern (Wersäll, Flock und Lundquist 1965) kann man bei den Rezeptorzellen des Cortischen Organs zwei Rezeptortypen unterscheiden. Ihnen entsprechen zwei efferente Synapsenformen. An den äußeren Haarzellen besteht ein direkter Kontakt zwischen Sinneszellen und granulierten efferenten Nervenendigungen. Es lassen sich hier typische prä- bzw. postsynaptische Strukturen nachweisen. Morphologische Hinweise auf eine synaptische Verbindung zwischen efferenten und afferenten Fasern wurden hier in Untersuchungen an Katzen nicht gefunden (Rodriguez Echandia 1967). Die inneren Haarzellen werden an ihrer Basis von den afferenten Nervenendigungen berührt. An die afferenten Nervenendigungen lagern sich nun die efferenten Fasern an, ohne mit den Rezeptorzellen in Verbindung zu treten. Die Kontaktstellen zwischen afferenten und efferenten Fasern lassen sich jedoch morphologisch als Synapsen identifizieren (Smith 1961, Spoendlin 1966, Iurato 1967, Smith und Sjöstrand 1961, Nomura und Schuhknecht 1965).

Die am Cortischen Organ vorkommenden Synapsentypen der efferenten Endigungen kann man, was die äußeren Haarzellen betrifft, als axosomatisch bezeichnen.

In Unterscheidung dazu lassen sich die Kontaktstellen zwischen den afferenten Endigungen als axodendritische Synapsen auffassen, da die Efferenzen nicht direkt mit dem Soma der nachgeschalteten Nervenzellen (hier: den Bipolarzellen) in Verbindung treten, sondern mit quasidendritischen Fasern dieser Zellen. Im ersten Fall besteht also die Möglichkeit, die Übertragungsfunktion des Rezeptors selbst zu ändern; im zweiten Fall läßt sich die Menge des afferenten Informationsflusses steuern und regulieren.

Man kann erwarten, daß diese Strukturunterschiede oder neurophysiologisch betrachtet, daß der Unterschied zwischen prä- und postsynaptischer Inhibition funktionell wichtig ist. Auffällig ist auch die Tatsache, daß die efferente Innervation von der Spitze zur Basis der Cochlea zunimmt.

Die äußeren Haarzellen der Basalwindung zeigen die dichteste efferente Innervation. Das Verhältnis von Rezeptoren zu efferenten Endigungen beträgt hier 1:6. Zur Spitze der Cochlea hin nimmt die Dichte der efferenten Fasern ab. Auch die Hookportion am Anfang der Schnecke ist nicht so stark efferent innerviert. Dies geht aus histochemischen und elektronenoptischen Untersuchungen hervor (Übersicht: Iurato, Luciano, Pannese und Reale 1971 und Klinke und Galley 1974).

Das Innervationsmuster der efferenten Fasern an den Rezeptorzellen ist auch unter Umständen für die Interpretation der neurophysiologischen Meßparameter notwendig. Es soll deshalb noch einmal kurz zusammengefaßt werden. Das Cortische Organ wird nur von relativ wenigen efferenten Fasern versorgt. Die Zahl wird mit ca. 500 angegeben, von denen 75% dem gekreuzten Olivo-cochleären Bündel angehören sollen. (Rasmussen 1964).

Das Verhältnis der äußeren Haarzellen zu den inneren Haarzellen beträgt ungefähr 3:1. Die äußeren Haarzellen werden zum weitaus größten Teil durch das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel innerviert. Daneben aber auch durch das ungekreuzte Bündel (Kimura und Wersäll 1962, Smith 1968 a). Histochemische Untersuchungen weisen auf eine relativ stärkere efferente Versorgung an der Basis der Cochlea hin.

4. NEUROPHYSIOLOGISCHE BEFUNDE
ÜBER EFFERENTE AKTIVITÄT
AM CORTISCHEN ORGAN

4.1. M e ß p a r a m e t e r

Zwischen Ductus cochlearis und dem Perilymphraum läßt sich in Ruhe das Bestandpotential abgreifen. Daneben treten auf akustischen Reiz verschiedene Reizfolgeströme auf. Am runden Fenster lassen sich auf kurze Tonimpulse oder Klicks ein Mikrophon- und Summenaktionspotential nacheinander ableiten. Bei den Mikrophonpotentialen handelt es sich höchstwahrscheinlich um Potentiale der Haarzellen, die gewöhnlichen Generatorpotentialen von Rezeptoren sehr ähnlich sind und in einem physiologischen Bereich den Schallreiz weitgehend amplituden- und frequenzgetreu abbilden. Das Summenaktionspotential stammt von den afferenten Fasern des Nervus cochlearis. Es kommt durch eine synchrone Erregung der Nervenfasern zustande, die man durch kurze Tonimpulse oder Klicks, welche einem Diraqimpuls nahekommen, erreichen kann. Bei Beschallung durch einen Dauerton verschwindet das Summenaktionspotential vollständig.

Ein DC-potential verschiedener Polarität, das sog. summing potential kann man auf akustischen Reiz hin beobachten. Mit Mikroelektroden lassen sich die Aktionspotentiale einzelner Fasern des Nervus cochlearis registrieren. Alle diese Potentiale werden wie in Kap. 4.3. gezeigt werden soll durch efferente Aktivität in spezifischer Weise verändert. Sie dienen als neurophysiologische Meßparameter.

4.2. A k t i v i e r u n g e f f e r e n t e r F a -
s e r n

Dem Problem der Registrierung steht das Problem

einer Aktivierung efferenter Fasern am Cortischen Organ gegenüber. Fex (1962, 1963, 1965 b) gelang es die Fasern des ungekreuzten und des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels durch Schallreize zu aktivieren. Dabei wurde aus efferenten Einzelfasern in der Oort'schen Anastomose des kontralateralen Ohres abgeleitet, die, wie bereits erwähnt, nur aus efferenten Fasern besteht. Es ergaben sich Tuningkurven, die denen afferenter Neurone ähneln, aber wesentlich flacher sind. Die optimalen Anregungsfrequenzen lagen zwischen 0,2 kHz und 6,9 kHz. Die Schwellen wurden bei mindestens 15 dB gefunden, meist jedoch bei 40 dB. In Abhängigkeit vom Schalldruck wurden Latenzen zwischen 5 und 40 msec. gemessen. Ipsilaterale elektrische Reizung des Nervus cochlearis verstärkte die efferenten Entladungen. Eine akustische Reizung ist in diesem Fall nicht möglich, da für die Ableitelektroden auf dieser Seite die Cochlea zerstört werden muß. Bei 10% der Fasern wurde Spontanaktivität gefunden. Da die Versuche nicht in schalltotem Raum gemacht wurden ist der Einfluß von Störschall möglich.

Durch einen Schnitt am Boden des vierten Ventrikels wurde das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel durchtrennt. Dennoch fanden sich auf kontralaterale Beschallung hin efferente Entladungen, deren Latenzen je nach Schalldruck 8 bis 40 msec. betragen. Die Schwellen der einzelnen Fasern lagen zwischen 20 bis 88 dB (Fex 1965 b). Wegen des scharfen Übergangs von Aktivierung und Hemmung könnte man einen kontrastverschärfenden Hemmungsmechanismus diskutieren. Das ungekreuzte Olivo-cochleäre Bündel ließ sich auch durch ipsilaterale elektrische Reizung des Nervus cochlearis

erregen. Die Befunde von Fex zeigen, daß efferente Fasern am Cortischen Organ durch Schallreize, aktivierbar sind.

Galambos (1956) zeigte zuerst, daß eine elektrische Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels an der Kreuzungsstelle am Boden des vierten Ventrikels möglich ist.

Das ungekreuzte Olivo-cochleäre Bündel kann man nach Angaben von Desmedt und La Grutta (1963) ventral der Vestibulariskerne selektiv nur nach Durchschneidung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels reizen.

Sohmer (1966) nennt außerdem noch andere Orte: Für das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel den accessorischen Kern der kontralateralen Olive, für das ungekreuzte Olivo-cochleäre Bündel das s-förmige Segment der gleichseitigen Olive.

4.3. E f f e r e n t e r E i n f l u ß a u f d i e R e z e p t o r e n d e s C o r t i s c h e n O r g a n s , b z w . d i e a f f e r e n t e n N e u r o n e

Die inhibitorische Wirkung efferenter Aktivität läßt sich aus der Art der Veränderungen an den oben erwähnten Potentialen erkennen.

Als wichtigstes Zeichen verminderter afferenter Aktivität kommt es zu einer Verkleinerung der Amplitude der Nervenaktionspotentiale des Nervus cochlearis und damit auch des Summenaktionspotentials (siehe Abb. 2).

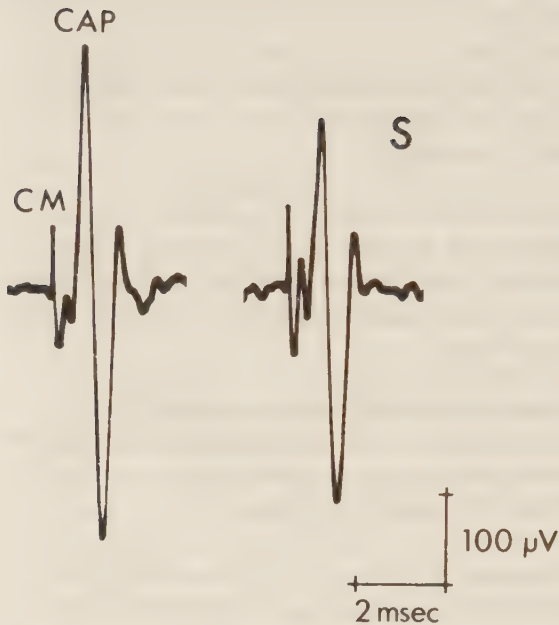


Abb.: 2
aus Klinke und Galley(1974)

Eine elektrische Reizfrequenz von 300 bis 400 Impulsen pro sec. stellte sich für die elektrische Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels als optimal heraus. Dabei ist die Wirkung nach 100 msec. am Summenaktionspotential am deutlichsten zu beobachten. Nach Beendigung der elektrischen Reizung nimmt die Hemmung mit einer Exponentialfunktion ab (Desmedt 1962, a und b, Wiederhold und Chance 1963). Die Hemmung der Afferenzen ist bei schwellenden akustischen Reizen am größten und beträgt dann ungefähr 20 dB (Desmedt 1962 , a und b).Bei der Inhibition von kurzen Tonimpulsen

verschiedener Frequenzen gibt es widersprüchliche Befunde: Sohmer (1965, 1966) fand bei niedrigen Frequenzen eine optimale Hemmung durch Reizung des Olivo-cochleären Bündels, während Wiederhold und Peake (1966) ein Inhibitionsmaximum bei Tonimpulsen hoher Mittenfrequenzen beobachten. Sohmers Angaben sind mit den histochemischen Befunden (Iurato, Luciano, Pannese und Reale 1971), die eine stärkere efferente Innervation an der Basis der Cochlea annehmen lassen, schwer zu vereinbaren.

Neben einer Depression der Amplitude des Summenaktionspotentials kommt es zu einer Vergrößerung der Mikrophonpotentiale auf elektrischen Reiz des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels hin, zuerst beschrieben von Fex (1959, 1962).

Die Mikrophonpotentiale werden im Gegensatz zum Summenaktionspotential durch Reizung des ungekreuzten Bündels nicht verändert (Desmedt und La Grutta 1963, Sohmer 1966, Fex 1967 b, 1968).

Diese Tatsache läßt sich durch das efferente Innervationsmuster im Cortischen Organ leicht erklären. Während die Fasern des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels direkt an den äußeren Haarzellen inserieren, versorgt das ungekreuzte Olivo-cochleäre Bündel hauptsächlich die inneren Haarzellen. Die Mikrophonpotentiale werden als Rezeptorpotentiale der erheblich zahlreicheren äußeren Haarzellen aufgefaßt und durch Reizung des ungekreuzten Olivo-cochleären Bündels kaum verändert werden können.

Bei Einzelfaserableitungen aus primären Neuronen des Nervus acusticus hemmte die elektrische Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels die Spontanaktivität einiger Fasern. In weit stärkerem Maße konnte die durch Beschallung her-

vorgerufene Reizfolgeaktivität der Afferenzen inhibiert werden. Besonders bei Frequenzen von 6 bis 10 kHz und niedrigen Schalldrücken (Fex 1962, Wiederhold 1967, 1970, Chamberlain, Moxon und Wiederhold 1968, Wiederhold und Kiang 1970). Das DC-Potential der Scala tympani, bzw. der Scala media wird nach efferenter Reizung gegen negative Werte verschoben (Fex 1962, 1967, a, b, 1968).

Diese Potentialverschiebungen sind nach Fex (1967 b) als Ausdruck postsynaptischer Potentiale der Haarzellen zu verstehen. Die Zellmembran würde also hyperpolarisiert, das postsynaptische Potential wäre inhibitorisch.

Entsprechende Effekte auf das summing potential zeigen Untersuchungen von Konishi und Slepian (1971a,b).

Fex konnte (1962) eine Aktivierung efferenter Fasern nach kontralateraler Beschallung nachweisen.

Erstaunlicherweise, vor allem im Hinblick auf die Befunde nach elektrischer Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels auf das Summenaktionspotential, ergab jedoch die Beschallung des kontralateralen Ohres keine Hemmung der ipsilateralen affferenten Nervenfasern (Sørensen 1959, Flach und Seidel 1967). Diese Befunde lassen sich mit den vorhergenannten Untersuchungen nicht vereinbaren. Die Klärung dieser Frage ist aber offensichtlich mit entscheidend für eine Aussage über den physiologischen Sinn efferenter Aktivität. Es gibt psychophysische Untersuchungen am Menschen von Chocholle und Saulnier (1964) und Ward (1967), die auf eine ipsilaterale Schwellenerhöhung nach kontralateraler Beschallung hinweisen. Möglicherweise könnte diese Inhibition über die

efferente Aktivität der Olivo-cochleären Bündel wirksam werden. Im nucleus cochlearis ließ sich nach kontralateraler Beschallung die Aktivität primär afferenter Neurone hemmen (Klinké, Boerger und Gruber 1969 a,b und Klinké und Galley 1974).

4.4. Zur physiologischen Funktion der Olivo-cochleären Bündel

Einen notwendigen Beitrag zur Erforschung efferenter Funktion im akustischen System liefern psychophysische Untersuchungen und Verhaltensversuche. Die oben erwähnten Versuche von Ward (1967) über kontralaterale Fernmaskierung müssen wegen der Gefahr des Übersprechens kritisch gewertet werden.

Nach Durchtrennung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels bei der Katze wurden von Geller und Galambos (siehe Galambos 1960) in Verhaltensstudien keine Schwellenverschiebungen gegenüber einem Hintergrundgeräusch beobachtet. Ferner sollen die Unterschiedsschwellen für Frequenzen und Lautstärken nicht beeinträchtigt worden sein.

Die Tiere wurden zu Mittelohrreflexen auf Licht konditioniert. Nach Durchtrennung der Mittelohrmuskeln einer Seite wurde keine Veränderung des Aktionspotentials beobachtet.

Die Autoren verwarfen daraufhin die Hypothese, daß das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel in irgendeiner Weise zu einer Erwartungshaltung beiträgt.

Im Gegensatz zu diesen Befunden beschreiben Capps und Ades (1968), daß nach Durchtrennung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels bei Affen das Frequenzunterscheidungsvermögen für Töne bei

1000 bis 4000 Hz abnahm.

Die Widersprüche zwischen den Untersuchungen von Geller, Galambos und Capps und Ades (1968) sind nicht geklärt. Sie könnten an den unterschiedlichen Verhältnissen bei den Arten der benutzten Versuchstiere liegen oder auch an der Untersuchungsmethode.

Die Verhaltensuntersuchungen von Capps und Ades (1968) decken sich mit den neurophysiologischen Befunden von Klinke, Boerger und Gruber (1969a,b).

Dewson (1968) fand in seinen Untersuchungen, daß nach Durchschneidung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels die Maskierung von Sprachlauten durch Tiefpassrauschen vergrößert wurde. Es wurden dabei an einigen Affen Werte bis zu 10 dB beobachtet. Hochpassrauschen führte jedoch nicht zu einer größeren Maskierung. Dewson (1968) sieht in den Verhaltensversuchen seine neurophysiologischen Befunde bestätigt, nach denen durch efferenten Einfluß der Rauschsignalabstand verbessert wurde, in dem diejenigen Rezeptorzellen, die eben überschwellig durch ein Hintergrundgeräusch erregt werden, wieder inaktiviert werden.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen Nieder und Nieder (1970) auf Grund neurophysiologischer Untersuchungen. Nach Meinung der Autoren besteht die einfachste Erklärung in der Annahme von afferenten Fasern, die collateral sowohl die inneren als auch die äußeren Haarzellen innervieren. Die äußeren Haarzellen würden mit einer niedrigen Schwelle bereits auf schwache Reize ansprechen. Efferente Aktivität würde die Übertragung schwacher Signale durch die äußeren Haarzellen verhindern, während bei größeren Schalldrucken eine Übertragung durch die möglicherweise weniger empfindlichen inneren Haarzellen erfolgen könnte. Indes gibt es bisher

für diese Hypothese keine anatomischen Anhaltspunkte.

Trahiotis und Elliot (1970) untersuchten Effekte nach Durchtrennung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels an Katzen. Die Autoren fanden keine Veränderungen oder systematische Abweichungen der absoluten Schwellen. Wenn jedoch Töne durch Breitbandrauschen maskiert wurden, zeigten die Tiere der Testgruppe eine größere Maskierung, als die Versuchstiere der Kontrollgruppe, d.h., die Schwellen für maskierte Töne wurden bei den Katzen mit durchtrenntem gekreuzten Olivo-cochleären Bündel größer und zwar bei jeder Frequenz und allen Geräuschstärken. Die Befunde waren jedoch bei der geringen Zahl der Versuchstiere statistisch nicht signifikant. Die Funktionen für die Schwellenverschiebungen nach Vertaubung, den sog. temporary threshold shifts (TTS), waren gegenüber der Kontrollgruppe nicht verändert. Die Autoren halten bei aller Vorsicht zwei sich nicht unbedingt ausschließende Theorien für möglich. Einmal sei möglich, daß quantitativ mehr maskierendes Geräusch übertragen würde oder andererseits, daß der Testton sozusagen weniger rein würde, was im ersten Fall wohl eine Abnahme des Rauschsignalabstandes bedeuten soll und im zweiten Fall als ein Verlust von Trennschärfe zu verstehen ist.

Die Ergebnisse der neurophysiologischen, psychophysischen Verhaltensuntersuchungen werden von verschiedenen Autoren recht unterschiedlich interpretiert.

Pfalz (1969) kommt zu dem Schluß, daß das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel keine physiologische Funktion hätte. Er beruft sich dabei auf Befunde von House und William (1964) und Fisch und Yasargil (1968). Die Autoren hatten berichtet, daß nach Operationen an Patienten mit Akustikus-

neurinomen, bei denen zwangsläufig die Olivo-cochleären Bündel einseitig durchtrennt werden mußten, keine Hörschäden vom Haarzelltyp auftraten. Bei den erkrankten Ohren handelt es sich jedoch um in ihrer Funktion schwer beeinträchtigte Sinnesorgane mit Hörverlust, die eine Vergleichbarkeit mit gesunden Ohren einschränken.

Darüberhinaus ist die Leistungsfähigkeit klinischer Methoden für die Erforschung der akustischen Efferenzen fraglich. Einfache Hörschwellenbestimmungen sind wenig sinnvoll, da sich durch sie differenzierte Einflüsse auf die Übertragungsfunktion der akustischen Rezeptoren, so z.B. Veränderungen des Rauschsignalabstandes nicht bestimmen lassen.

Davis (1969) hält eine gezielte Bereichsverschiebung der Rezeptoren für wahrscheinlich, die zu einer größeren Frequenzunterscheidung führen würde, was u.a. durch Untersuchungen von v.Bekeesy (1960) gestützt würde, der über ein Zusammenrücken von Isophonlinien nach Adaptation berichtet.

Die relativ größere Versorgung der basalen Anteile der Cochlea durch efferente Fasern hält Bosher (1968) für besonders wichtig, da diese Rezeptoren durch jede der einlaufenden Wanderwellen auch denen für reine Töne tiefer Frequenz erregt werden. Es käme also durch die Efferenzen zu einer Vergrößerung des Tonhöhenkontrastes für tiefe Töne. Klinke und Galley (1974) diskutieren die physiologische Funktion der akustischen Efferenzen vor allem unter folgenden Gesichtspunkten. Danach käme

1. eine feed-back Schleife für akustische Signale in Frage. Dem entgegen steht jedoch u.a. der Befund von Fex (1962, 1963), daß sich auf akustische Reize hin nur eine geringe Aktivität der Efferenzen erreichen läßt (Pfalz 1967).

Auch Klinke und Galley (1974) halten eine feed-back Schleife auf Hirnstammebene für sehr unwahrscheinlich, womit die Autoren ein feed-back über höhere Anteile des ZNS aber nicht ausschließen wollen.

2. wird ein Mechanismus diskutiert, der, einer Torschaltung entsprechend, bereits am Empfängerorgan eine kritische Signalverarbeitung leisten würde. Das ein solcher Mechanismus irgendwo im akustischen System existiert gilt als sicher. Für die Autoren stellt sich die Frage ob und wie weit die Efferenzen daran beteiligt sind. Die meisten Befunde scheinen dagegen zu sprechen. Klinke und Galley (1974) zitieren aber auch Untersuchungen über akustische Habituation bei wechselndem Aufmerksamkeitsverhalten und Potentialveränderungen nach Durchtrennung der gekreuzten Olivo-cochleären Bündel, die diese Hypothese unterstützen. Möglicherweise üben die Efferenzen aber auch nur während bestimmter Schlafphasen eine reizselektierende Wirkung aus.
3. könnte eine gegenseitige Beeinflussung beider Ohren eine Rolle spielen, worauf psychophysische Befunde hinzuweisen scheinen.
4. erwägen die Autoren auf Grund entsprechender Befunde am Vestibularorgan die Möglichkeit eines feed-forward Systems, daß z.B. die Aufgabe hätte, eine Vertaubung durch die eigene Stimme zu verhindern. Psychophysische Befunde über Veränderungen der temporary threshold shifts (TTS)(vgl.S13) bei Vokalisation durch die Versuchsperson geben nach Klinke und Galley (1974) Anlaß zu weiteren Untersuchungen über die Rolle der Efferenzen bei diesem Phänomen.
5. wird eine trophische Funktion der Efferenzen für unwahrscheinlich erachtet.
6. Theorien über eine Beteiligung der Efferenzen an

Adaptionsvorgängen halten die Autoren ebenfalls für unwahrscheinlich.

Eine kritische Abwägung der Argumente für diese Hypothesen siehe dort.

Abschließend soll festgehalten werden, daß trotz umfangreicher Befunde über die Olivo-cochleären Bündel die Funktion der efferenten Versorgung des Cortischen Organs noch nicht eindeutig bestimmt ist.

5. ZUR PHYSIOLOGIE DER INFOR- MATIONS ÜBERTRAGUNG IN CHE- MISCHEN SYNAPSEN

- 5.1. Allgemeine Vorstellungen
Die Aufklärung des Neurotransmitter der efferenten Nervenendigungen am Cortischen Organ hat weniger Bedeutung für die Erkenntnis der physiologischen Wirkungsweise dieser Fasern, sondern eher im Rahmen einer allgemeinen Transmitterphysiologie. Umgekehrt ist jedoch die Kenntnis der Funktionsweise wichtig für die Interpretation der neurophysiologischen Meßparameter, die für die pharmakologischen Untersuchungen am Innenohr zu Hilfe genommen werden müssen. Die Physiologie der efferenten Fasern am Cortischen Organ wurde deshalb relativ ausführlich dargestellt. Im übrigen werden die efferenten Synapsen am Cortischen Organ methodisch nach den Gesichtspunkten untersucht, wie sie auch sonst in der Synaptologie gültig sind. Auf die allgemeinen Grundlagen der Synapsenforschung soll deswegen hier kurz hingewiesen werden.

Wie bereits erwähnt, sind die Synapsen der efferenten Nervenendigungen an den Haarzellen nicht ganz einfach strukturiert. Dennoch entsprechen sie neuroanatomisch und funktionell im wesentlichen

den chemischen Synapsen, wie man sie überall im Nervensystem findet. Anders als bei den elektrischen Synapsen, die teilweise inhibitorisch wirken, wie an den Mauthnerzellen der Fische, wird hier ein Überträgerstoff benötigt, der Erregung von Neuron zu Neuron weiterleitet.

Allgemein schließt eine ca. 70-80 Å breite Doppelmembran einen synaptischen Endknopf gegenüber dem synaptischen Spalt ab. Es besteht also keine morphologische Verbindung zur nächsten Nervenzelle. Im Endknopf, vor allem in der Nähe der präsynaptischen Membran, befinden sich zwischen 200-600 Å große Bläschen, auch Vesikel genannt, die vermutlich den Transmitter enthalten, d.h. die Substanz, die für die Erregungsübertragung in chemischen Synapsen verantwortlich ist.

Den Transmitterprozeß stellt man sich dabei im Prinzip so vor (vgl. Eccles 1964, Katz 1970, Grüsser, Klinke, Kossow 1968), daß es nach dem Einlaufen eines Nervenimpulses präsynaptisch zu einer Depolarisation kommt, die durch eine Änderung des elektrischen Feldes und unter gleichzeitiger Aufnahme von Ca^{++} zur Freisetzung des Transmitters führt.

Die Moleküle diffundieren in sehr kurzer Zeit über einen ca. 200-500 Å breiten synaptischen Spalt zur synaptischen Membran des nächsten Neurons. Hier kommt es zur Reaktion mit in der Membran fixierten Rezeptoren, die postsynaptisch zu einer Permeabilitätsänderung für bestimmte Ionen führt. Sofort danach werden die Transmittermoleküle zerstört, so daß sich nur eine kurze Wirkungszeit für den Transmitter ergibt, die je nach Art der Synapse zwischen weniger als einer Millisekunde und einigen hundert Millisekunden liegt.

Entscheidend für die Signalverarbeitung in Synapsen ist:

1. Art und Menge der freigesetzten Transmittersubstanz
 2. Die Reaktionsweise der synaptischen Membran.
- Für die Frage, welche Substanz von einer Nervenzelle als Transmitter abgegeben wird, gilt das Dale'sche Prinzip (Dale 1935), demzufolge eine Nervenzelle an allen Synapsen den gleichen Überträgerstoff freisetzt. Sie ist auf Grund eines speziellen Enzymbesatzes zu seiner Synthese fähig. Als Speicher dienen die schon erwähnten Vesikel.

Wichtige Erkenntnisse über den Transmitterprozeß wurden vor allem durch Untersuchungen an der Muskellendplatte gewonnen (Übersicht: Katz 1971).

Daraus ging hervor (Fatt und Katz 1952), daß eine Freisetzung des Transmitters auch spontan, ohne synaptische Erregung erfolgt. Die Menge des freigesetzten Transmitters ist gequantelt, d.h., sie stellt sich als Summe kleinerer konstanter Einheiten, den sog. Quanten dar. Deren Wirkung auf die subsynaptische Membran entsprechen die Miniaturpotentiale, die sich auch in Ruhe mit Mikroelektroden und intrazellulärer Ableitung nachweisen lassen.

Nimmt man an einer präsynaptischen Nervenfaser, an der man vorher pharmakologisch das Entstehen eines Nervenaktionspotentials unmöglich gemacht hat, eine künstliche linear ansteigende Depolarisation vor, steigt die Menge des abgegebenen Transmitters entsprechend dem Grad der Depolarisation in kleinen Sprüngen, oder anders ausgedrückt in Quanten (vgl. Eccles 1964). Wahrscheinlich ist die Speicherung des Transmitters in kleinen Bläschen, die sich plötzlich entleeren, für dieses Phänomen verantwortlich.

Die spontane Freisetzung der Transmitterquanten erfolgt zufällig und unterliegt statistischen Schwankungen. Nach dem Einlaufen eines Nervenaktionspotentials in den präsynaptischen Endknopf wird plötzlich eine große Zahl an Quanten freigesetzt, deren Moleküle über den 200-500 Å breiten synaptischen Spalt diffundieren. Die Diffusionsverhältnisse lassen sich zwar theoretisch einigermaßen kalkulieren, über die tatsächlichen Verhältnisse ist aber nur wenig bekannt (Stevens 1968).

Die Diffusionszeit ist kurz, wahrscheinlich erheblich weniger als 100 microsec..

Postsynaptisch reagiert der Transmitter mit molekularen Rezeptoren, die sich in der Membranoberfläche befinden. Die Zahl der entstehenden Transmitter-rezeptorkomplexe ist neben anderen Faktoren, wie der Dauer der Transmitterwirkung für das Ausmaß einer postsynaptischen Leitfähigkeitsänderung entscheidend. Dabei kommt es wahrscheinlich zu einer Umstrukturierung der Membran, so daß sich kleine Poren öffnen, die für bestimmte Ionen in Abhängigkeit von deren Größe und Hydratationshülle durchlässig sind.

Neben der Porenweite könnten positive oder negative Ladungen in den Porenwänden die Passage entweder nur für Kationen oder nur für Anionen weiter einschränken (vgl. Eccles 1964). Grundsätzlich hat die postsynaptische Membran zwei Möglichkeiten der Reaktion und zwar unabhängig davon, welche Substanz als Transmitter fungiert. Entweder in Richtung einer Depolarisation oder einer Hyperpolarisation des Ruhemembranpotentials.

So kann es sein, daß dieselbe Transmittersubstanz an der einen Synapse excitatorisch, an einer anderen hemmend wirkt. Hier kommt es auf die Art des Rezeptors, d.h., auf die spezifische Reaktionsweise der subsynaptischen Membran an.

In erregenden Synapsen kommt es durch eine plötzliche lokale Erhöhung der Leitfähigkeit für Natrium-, Kalium- und Chlorionen zu einer lokalen Depolarisierung, dem excitatorischen postsynaptischen Potential, kurz EPSP genannt. Der Vorgang beginnt mit dem Einstrom von positiven Natriumionen in das Zellinnere. Der repolarisierende Kaliumausstrom setzt etwas verzögert ein. Die lokale Depolarisation bewirkt auch eine Umstrukturierung an den anderen Teilen der Zellmembran und teilt sich so der gesamten Zelle mit.

Durch zeitliche Summation und bei Nervenzellen mit mehreren Eingängen, auch durch räumliche Summation einzelner EPSP's wird am Axonhügel beim Erreichen eines Schwellenwertes von ca. 15-20 mV ein Aktionspotential ausgelöst.

Diese Vorgänge haben aber für die Beschreibung des Transmitterprozesses schon keine Bedeutung mehr.

An hemmenden Synapsen reagiert die subsynaptische Membran in einer anderen Weise. Hier führt die Bildung von Transmitter-rezeptorkomplexen zu einer Erhöhung der Permeabilität für Kalium- und Chlorionen auf das Tausendfache.

Kurzfristig strömen positive Kaliumionen entsprechend dem elektrochemischen Gradienten aus dem Zellinneren nach außen und erzeugen auf die Weise eine lokale Hyperpolarisation, das inhibitorische postsynaptische Potential, kurz IPSP. Hauptsächlich auf diese Weise wird z.B. vom Vagus die Hemmung am Herzmuskel (Trautwein und Dudel 1958) erzeugt, während in Schneckenganglien eine höhere Chlorionenpermeabilität die entscheidende Rolle spielt (Kerkut und Thomas 1963). Neben diesen Arten postsynaptischer Hyperpolarisierung soll es noch eine langsame Hyperpolarisierung an synaptischen Ganglien des Ochsenfrosches durch Natriumtransport aus dem Intracellularraum geben (vgl. Eccles 1964).

Im Unterschied zum EPSP ist eine Hyperpolarisation durch Summation einzelner IPSP's begrenzt, da sehr schnell bei einem Wert von ca. 90 mV zwischen Intra- und Extrazellularraum das Gleichgewichtspotential für das IPSP erreicht wird, wo sich elektrisches Potentialgefälle und Konzentrationsgradient die Waage halten.

Soweit das Prinzip des Transmitterprozesses (Übersicht: Eccles 1964, Mc Lennan 1963, Gray 1967, Whitaker 1968, Grüsser, Klinke, Kossow 1968, Stevens 1968, Katz 1970, Phillis 1970).

Was im einzelnen an den Synapsen der akustischen Efferenzen geschieht ist natürlich noch nicht bekannt.

Die Untersuchungen von Fex (1967 b) lassen jedoch auf eine Hyperpolarisierung der Haarzellen durch efferente Aktivität schließen.

5.2. Kriterien bei der Frage nach dem Neurotransmitter

Man kennt eine Reihe von chemischen Substanzen, die die Aktivität von Nervenzellen beeinflussen und sogar spezifische Ionenpermeabilitätsänderungen, sowohl im Sinne eines EPSP's als auch eines IPSP's hervorrufen.

Paton (1958), Curtis (1961), Mc Lennan (1963) und andere Autoren (siehe Steiner 1971) formulieren Kriterien, die erfüllt sein müssen, um eine chemische Substanz als Transmitter zu identifizieren. Danach müßte

1. die hypothetische Transmittersubstanz in den präsynaptischen Endigungen vorhanden sein.
2. der notwendige Enzymesatz für die Herstellung des Transmitters in den Nervenendigungen vorhanden sein und Vorstufen der Synthese nachweisbar sein.
3. eine ausreichende Menge bei Reizung der prä-

- synaptischen Nervenfasern ausgeschüttet werden.
4. ein spezifisches Enzymsystem am synaptischen Spalt gefordert werden, das für die Inaktivierung des Transmitters sorgt und einen Mechanismus für die Wiederaufnahme in die präsynaptischen Nervenendigungen verlangt werden.
 5. bei Reizung der präsynaptischen Nervenfasern die Transmittersubstanz im Extrazellularraum nachweisbar sein.
 6. eine Applikation der hypothetischen Transmittersubstanz vor allem auf mikroelektrophoretischem Wege postsynaptisch die gleiche Wirkung entfalten wie eine präsynaptische Ausschüttung des Transmitters.
 7. verlangt werden, daß Pharmaka, die an anderen, bereits erforschten Synapsen mit einem bestimmten Transmitter interferieren, in der gleichen Weise an der zu prüfenden Synapse wirksam sind.

Die beiden letzten Punkte sind für die experimentelle Transmitterforschung von besonderer Bedeutung.

5.3.

B e s o n d e r e S c h w i e r i g k e i t e n
d e r T r a n s m i t t e r p h y s i o l o g i e
a m C o r t i s c h e n O r g a n

Am Cortischen Organ ist die Applikation von Testsubstanzen an die reagierenden postsynaptischen Membranen besonders schwierig, da bei dem technischen Problem, möglichst direkt an den zu prüfenden Synapsen wirksame Konzentrationen zu erreichen, die Funktion des Cortischen Organs sehr schnell beeinträchtigt wird.

Es bietet sich ein ähnliches Problem wie bei der Kontrolle efferenter Aktivität, wo man auch nicht direkt z.B. aus den Haarzellen ableiten und re-

gistrieren kann.

Als wesentliche Applikationsformen von Testsubstanzen sind hier zu nennen:

1. die intravenöse Injektion oder Infusion,
2. die intraarterielle Injektion oder Infusion,
3. die Durchspülung der Scala tympani mit einer artifiziellen Perilymphe, die die zu testende Substanz enthält und
4. die Mikroelektrophorese.

Eine intravenöse Injektion oder Infusion hat zur Voraussetzung, daß es sich bei der Testsubstanz um einen Stoff handelt, der chemisch stabil ist und nicht so schnell metabolisiert wird. Jedenfalls müssen genügende Mengen appliziert werden, um eine ausreichende Konzentration am Untersuchungsort zu erzielen.

Es ist klar, daß bei dieser Technik große Dosen benötigt werden, da sich das Pharmakon auf ein relativ großes Volumen verteilt. Eine bessere Methode ist die intraarterielle Injektion oder Infusion. Man erreicht mit kleinen Dosen lokal höhere Wirkspiegel. Außerdem ist die Transportzeit zur untersuchten Körperregion wesentlich kürzer. So können auch Pharmaka, die einem schnellen Abbau unterliegen, getestet werden. Am Cortischen Organ sind jedoch beide Applikationsformen auf Grund einer noch wenig erforschten Blutperilymphschranke im Zusammenhang mit dem verwendeten Pharmakon zu problematisieren. In Analogie zu dem relativ dichten Kapillarfilter, den die Bluthirnschranke für das Gehirn darstellt, wäre dabei einmal der Durchtritt von Stoffen, die eine gewisse Molekülgröße überschreiten, zum anderen von nicht lipidlöslichen Substanzen, z.B. von Stoffen mit polaren Gruppen stark erschwert oder unmöglich.

Außerdem könnten aktive molekülspezifische Schrankenmechanismen eine Rolle spielen.

Bei Annahme eines Schrankenmechanismus wäre die einfachste Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse pharmakologischer Untersuchungen, die sich entweder einer intravasalen oder einer lokalen Applikationstechnik bedienen.

Mit der Durchspülung der Scala tympani hat man sicher eher die Gewähr, einigermaßen quantifizierbare Konzentrationen an den Synapsen der Haarzellen zu erreichen. Beim Meerschweinchen läßt sich diese Technik am leichtesten anwenden, da die Cochlea bei dieser Tierart sich frei in der Bulla befindet und sich operativ relativ leicht angehen läßt.

Meerschweinchen erweisen sich aber als Versuchstiere in der Narkose als recht empfindlich und sind für längerdauernde Versuche weniger geeignet.

Schwierigkeiten entstehen bei der Herstellung einer künstlichen Perilymphe mit der die Scala tympani durchspült werden soll. In der Literatur schwanken die Angaben für die genaue Ionenzusammensetzung der Perilymphe bei den verschiedenen Säugetierarten und sogar für dieselbe Tierart erheblich. Es stellt sich aber heraus, daß die Meßparameter für den Funktionszustand, wie Mikrofon- und Summenaktionspotentiale sowohl bei Instillation von körpereigenem Liquor als auch von Säugetierringer nicht wesentlich beeinträchtigt werden. Die Verträglichkeit des Liquor cerebrospinalis ist dabei nicht verwunderlich, wird doch von einigen Autoren dem Liquor eine wichtige Rolle bei der Bildung der Perilymphe zugesprochen (vgl. Rauch 1964).

Ein Nachteil bei der Durchspülung mit künstlicher

Perilymphe ist die Gefahr einer Alteration des Cortischen Organs durch die Operation und den mechanischen Reiz einer Durchspülung mit zu großer Geschwindigkeit.

Als Punkt 4 bei den Applikationsformen der Testsubstanzen wurde oben die Mikroelektrophorese genannt. Das Lumen von Glasmikroelektroden kann man mit Lösungen von bestimmten Ionen oder ladungstragenden Molekülen füllen. Durch Gleichstrom ist es möglich die Ladungsträger in Abhängigkeit von Polarität und der Stromrichtung zu bewegen und auf diese Art an der Elektroden spitze lokal hohe Konzentrationen erreichen. Diese Methode spielt für die Untersuchungen am Cortischen Organ keine sehr wesentliche Rolle, da durch Einstich der Elektroden in das Cortische Organ seine Funktion gestört wird. An anderen Synapsen ist diese Technik jedoch sehr leistungsfähig (Steiner 1971).

5.4. Zur Auswahl der Testsubstanzen

Welche Substanzen bieten sich nun für die Untersuchungen von Synapsen speziell für die efferenten Synapsen am Cortischen Organ an ?

An erster Stelle wären da natürlich die Verbindungen zu nennen, von denen man annimmt, daß sie mit dem Transmitter identisch sind.

Acetylcholin ist der Stoff von dem man am längsten weiß, daß er im Nervensystem von Säugetieren als Transmitter fungiert. Zu den cholinergen Nervenfasern gehören die prä- und postganglionären Fasern des Parasympathikus. Im sympathischen Nervensystem wird Acetylcholin meistens nur von den präganglionären Neuronen ausgeschüttet. In einigen Ausnahmen allerdings auch postganglionär. Die markhaltigen Fasern der motorischen Nervenfasern sind ebenfalls cholinerg. Wie an der Muskelendplatte

wurde im Rückenmark an den Synapsen zwischen den Kollateralen der Motoneurone und den Renshawzellen Acetylcholin als Überträgerstoff ermittelt (Eccles, Fatt und Koketsu 1954, Eccles, Eccles und Fatt 1956, Curtis, Eccles 1958, Eccles 1964).

Das entspricht dem Dale-schen Prinzip (Dale 1935), nach dem alle Fasern eines sich aufzweigenden Neurons denselben Transmitter freisetzen.

Acetylcholinempfindliche Neurone wurden in allen bis jetzt untersuchten Hirnregionen gefunden. Dabei kann Acetylcholin entweder aktivierend oder hemmend wirken. Eine aktivierende Wirkung wird dabei häufiger angetroffen als eine hemmende Wirkung (Steiner 1971).

Ein anderer lange bekannter Transmitter ist Nor-Adrenalin, das diese Funktion in den meisten postganglionären Synapsen des Sympathikus hat. Im ZNS kann man Nor-Adrenalin histochemisch in vegetativen Zentren wie dem Hypothalamus nachweisen. Dopamin, eine Vorstufe in der Synthese, findet man vermehrt in extrapyramidalen Strukturen.

Die Renshawzellen im Rückenmark werden zwar durch cholinerge Motoneurone aktiviert. Die Inhibition der Motoneurone durch die Renshawzellen erfolgt jedoch durch die Vermittlung eines anderen Transmitter. Wie Werman, Davidoff und Aprison (1966) und Curtis, Hösli und Johnston (1967) zeigen konnten, handelt es sich hierbei sehr wahrscheinlich um die Aminosäure Glycin.

Es gibt Anhaltspunkte dafür, daß auch andere Aminosäuren im ZNS Transmitterfunktionen haben. Ein weiterer, an den Purkinjezellen inhibitorisch wirkender Transmitter ist möglicherweise GABA (Obata, Ochi und Sato 1967).

Neben chemisch reinen definierbaren Verbindungen erzeugen Hirnextrakte an Synapsen pharmakologische

Wirkungen. Der Schluß auf den wirksamen Stoff hängt dann von der genauen Analyse des betreffenden Hirnextraktes ab.

Jede, der in Frage kommenden Transmittersubstanzen wird auf bestimmte Weise im Körper synthetisiert und abgebaut. Mit einer Reihe von Pharmaka kann man in die Synthesewege oder Abbaumechanismen eingreifen. Wo und wann man mit welchem Pharmakon eingreifen kann, soll konkret bei den einzelnen Untersuchungen am Cortischen Organ mit den unterschiedlichen Testsubstanzen besprochen werden.

6. PHARMAKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DEN EFFERENTEN SYNAPSEN DES CORTISCHEN ORGANS

6.1. Prüfungen auf cholinerge Mechanismen

6.1.1. Zur Wirkungsweise von Acetylcholin

Eine Reihe von histochemischen und pharmakologischen Untersuchungen an den efferenten Synapsen des Cortischen Organs (siehe Kap. 6.1.4. und 6.1.5.) weist auf Acetylcholin als möglichen Transmitter hin.

Allgemein kann man sich die molekularbiologischen Vorgänge an einer cholinergen Synapse so vorstellen:

1. Synthese im präsynaptischen Endknopf aus aktivierter Essigsäure und Cholin durch das Ferment Cholinacetyl-Transferase,
2. Speicherung durch Bindung an ein Speicherprotein in den Vesikeln,
3. Freisetzung in den synaptischen Spalt bei präsynaptischer Depolarisierung,
4. Reaktion mit einem spezifischen Rezeptorprotein

an der synaptischen Membran nach den Gesetzen der Enzymkinetik,

5. Spaltung und Inaktivierung durch das Enzym Acetylcholinesterase,
6. Wiederaufnahme der molekularen Bruchstücke in die präsynaptische Nervenendigung und Resynthese.

6.1.2. Die Bedeutung von Ca^{++} an cholinergen Synapsen

Die Freisetzung von Acetylcholin aus den Vesikeln in den synaptischen Spalt ist von der extrazellulären Kalziumionenkonzentration abhängig, wie Katz und Miledi (1965, 1967) und Elmquist und Feldman (1965) an der motorischen Endplatte zeigten. Vor der Transmitterausschüttung soll es dabei zu einem Ca^{++} -einstrom durch die präsynaptische Membran kommen. Moscovitsch und Gannon (1966) erhöhten in einer künstlichen Perilymphe die Ca^{++} -konzentration und beschrieben eine Vergrößerung der Mikrofonpotentiale und des summing potential, während sich das Nervensummenaktionspotentialverkleinerte. Die Autoren folgerten daraus, daß Ca^{++} entweder direkt eine Hyperpolarisierung der Haarzellen bewirken oder eine erhöhte Transmitterfreisetzung der efferenten Fasern veranlassen. Fex (1967 a) arbeitete ebenfalls mit einer künstlichen Perilymphe, in der die Ca^{++} -konzentration bis auf 10 mM/l gesteigert worden war und leitete mit Mikroelektroden aus dem Endolymphraum ab. Die, durch Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels erzeugte Gleichspannungsänderung trat mit einer Latenzverkürzung und einer größeren Anstiegssteilheit auf, während die Phase des Abklingens nach Reizende verzögert wurde. Eine Beeinflussung der Mikrofonpotentiale wurde nicht beobachtet, während das summing potential gegen negative Werte

verschoben wurde.

Die Wirkung einer Ca^{++} freien künstlichen Perilymphe auf cochleäre Potentiale untersuchten Konishi und Kelsey (1970). Die Autoren beobachteten dabei eine reversible Verkleinerung des Aktionspotentials und eine leichte Amplitudenverkleinerung der Mikrophonpotentiale. Das endocochleäre Potential wurde nicht vermindert. Die Veränderungen wurden verstärkt durch Zusatz von AEDTA, das mit Ca^{++} Chelatkomplexe bildet. Die Effekte waren bei Spülung in der Scala tympani größer als in der Scala vestibuli. Die durch Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels hervorgerufenen langsamen negativen Potentiale in der Scala media wurden inhibiert. Die Wirkungen auf Mikrophon- und Summenaktionspotential und das Anwachsen eines positiven summing potential durch Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels wurden ebenfalls aufgehoben. Die Tatsache, daß ein Ca^{++} -entzug aus der Perilymphe die Mikrophonpotentiale nur langsam veränderte, im Gegensatz zur Wirkung auf die Potentiale anderer Rezeptoren (Froschmuskelspindel), versuchten die Autoren mit einer möglicherweise größeren Stabilität des Membranpotentials an den Haarzellen zu erklären. Weil nicht alle Effekte des Ca^{++} -entzugs voll reversibel waren, wird von den Untersuchern angenommen, daß eine Verkleinerung der Cochleamikrophonpotentiale durch Ca^{++} -entzug weitergehende Mechanismen auslöst, die dann später bei Ca^{++} -zuführung nicht wieder rückgängig gemacht werden können.

Die Beobachtung, daß ein Ca^{++} -entzug in der Scala tympani stärker wirkt als in der Scala vestibuli, kann man wohl durch die natürliche Entfernung der Räume zu den Synapsen erklären. Am Seitenlinien-

organ vom Goldfisch (*Xenopus laevis*) machte Russell (1968) die Beobachtung, daß eine inhibitorische Wirkung der efferenten Fasern nur zu erhalten war, wenn die Flüssigkeit mit der das Präparat feuchtgehalten wurde genügend Ca^{++} enthielt. Bei einer Konzentration von 1,8 mM/l oder weniger in der dazu benutzten Ringerlösung nahm der hemmende Effekt der Efferenzen stark ab. Russell (1968) stellte am Seitenlinienorgan auch einen Antagonismus zwischen Ca^{++} und Mg^{++} fest. Eine Erhöhung der Mg^{++} -konzentration konnte die efferente synaptische Übertragung auch in Gegenwart einer sonst ausreichenden Ca^{++} -konzentration unterdrücken.

Aus der Wirkung von Ca^{++} an den efferenten Synapsen im Cortischen Organ kann man sicher nicht ohne weiteres auf einen bestimmten Transmitter schließen. Dazu sind die Funktionen des Kalziums im Körper zu vielseitig, obwohl man weiß, daß Ca^{++} an der Acetylcholinfreisetzung beteiligt ist(siehe oben). Danebensollen Ca^{++} aber z.B. auch die Freisetzung von GABA an inhibitorischen Synapsen der Krebse beeinflussen (Otsuka, Iversen, Hall und Kravitz 1966).

Ganz allgemein nimmt man vom Kalzium an,daßes selbst als intrazelluläre Überträgersubstanz dient, um Zellfunktionen zu katalysieren. Dabei findet sich der Antagonismus von Ca^{++} und Mg^{++} am Seitenlinienorgan wie Russell ihn beschrieben hat auch an der Muskeldendplatte und im ZNS.

Auf die Darstellung von Untersuchungen bei denen andere Ionen in ihrer Konzentration variiert wurden und von denen nicht eine unmittelbare Beziehung zu einer Transmitterfreisetzung bekannt ist, soll hier verzichtet werden.

6.1.3. Pharmakologische Eigenschaften cholinergere Synapsen.

Die Reaktionsweise von Synapsen auf verschiedene Pharmaka läßt auf den Transmitter schließen. Für die Suche nach dem Transmitter eignen sich Stoffe um so besser, wenn ihre Wirkungen hoch spezifisch sind und diese in einer bekannten Beziehung zu den pharmakologischen Eigenschaften des vermuteten Transmitters stehen.

Oft handelt es sich um chemische Derivate der hypothetischen Transmitter. Diese Verbindungen haben manchmal eine andere Wirkung als der Transmitter selbst. So kann man im Acetylcholinssystem pharmakologisch die Acetylcholinrezeptoren in muscarinempfindliche und nikotinempfindliche differenzieren. Die postganglionären parasymphathischen Rezeptoren reagieren im Gegensatz zu den anderen bekannten cholinergen Synapsen auf Muscarin, während die Acetylcholinrezeptoren der Muskelendplatte und der vegetativen Ganglien durch Nikotin beeinflusst werden. Ausschließlich mit der Muskelendplatte reagieren die Muskelrelaxantien, während Hexamethonium hauptsächlich auf die vegetativen Ganglien wirkt. Bei hohen Dosen sind die Wirkungen nicht mehr so spezifisch. Für die Reaktion mit dem postsynaptischen Rezeptor sind drei sog. aktive Zentren am Acetylcholinmolekül wichtig. Der positiv geladene Stickstoff, der negativ geladene Carbonylsauerstoff und der positiv geladene Aethersauerstoff.

Die Kombination des quarternären Stickstoffs mit dem positiv geladenen Aethersauerstoff ist für die muscarinartige Wirkung verantwortlich (siehe Strukturformel, Anhang). An der motorischen Endplatte kann man Acetylcholin durch Muskelrelaxantien kompetitiv, d.h. vom Rezeptor verdrängen. Ausganga-

stoff für alle Relaxantien war das d. Tubocurarin bei dem sich 2 14 Å voneinander entfernte quarternäre Stickstoffatome für die Reaktion mit dem Rezeptor als entscheidend herausstellten. Curare wird an der motorischen Endplatte an den Rezeptor angelagert und verdrängt damit Acetylcholin. Es kommt aber nicht zur Depolarisation. Die Wirkung ist anhaltend, da die biologische Inaktivierung im Gegensatz zu Acetylcholin nur sehr langsam erfolgt. Andere Relaxantien reagieren mit dem Rezeptor an der Muskelendplatte und erzeugen eine Depolarisation, z.B. Succinylcholin.

Sie wirken postsynaptisch also wie Acetylcholin, werden aber nicht so schnell inaktiviert und machen deshalb eine Dauerdepolarisation, die am Muskel zu einer Lähmung führt. Die Testung von Synapsen direkt mit Acetylcholin ist oft wegen der Schnelligkeit mit der der Abbau erfolgt problematisch.

6.1.4. Histochemische Untersuchungen über die Acetylcholinesteraseaktivität am Cortischen Organ

Nur die lokal an den Synapsen vorhandene Acetylcholinesterase ist für den schnellen Abbau von Acetylcholin von Bedeutung. Die humoral vorkommende Pseudoacetylcholinesterase spielt keine Rolle. Eine Wechselzahl von $9,5 \cdot 10^5$ mM/mU $\cdot$ min für die Acetylcholinesterase drückt die große Aktivität des Enzyms aus. Die Reaktion mit Acetylcholin ist wie die an den postsynaptischen Rezeptoren hochspezifisch und kann selektiv durch Cholinesterasehemmstoffe gehemmt werden, entweder durch kompetitive Verdrängung von Acetylcholin oder durch quarternäre Stickstoffverbindungen, die mit Acetylcholin verwandt sind, oder durch teilweise irreversible Zerstörung des Esterasemoleküls durch Polyalkylphosphate. Unter dem Schutz von Cholinesteraseinhibi-

toren ist die Wirkung des Acetylcholin wesentlich verlängert.

Auch mit verschiedenen histochemischen Techniken kann man Acetylcholinesterase nachweisen. Auf das Vorkommen von Acetylcholinesterase in der Cochlea von Katzen wiesen zuerst Churchill, Schuhknecht und Doran (1956) hin.

In einer anderen Untersuchung von Schuhknecht, Churchill und Doran (1959) wurde das gekreuzte und das ungekreuzte Olivo-cochleäre Bündel im Sulcus limitans durchtrennt. Danach war die Acetylcholinesteraseaktivität in der Cochlea erheblich vermindert. Eine durch Streptomycin hervorgerufene Degeneration der Haarzellen ließ jedoch die Acetylcholinesterasekonzentration unbeeinflusst. Im Laufe der Zeit verbesserten sich die Methoden für den histochemischen Nachweis der Acetylcholinesterase.

Untersuchungen mit dem Elektronenmikroskop ermöglichten eine genauere Lokalisation. Aus der umfangreichen Literatur seien nur die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Wersäll, Hilding und Lundquist (1961), Hilding und Wersäll (1962), Uchizono, Nomura und Kosaka (1967), Kaneko und Daly (1968, 1969) und Iurato, Luciano, Pannese und Reale (1971) erwähnt. Iurato et al. (1971) geben in ihrer Arbeit einen Überblick über die histochemischen Untersuchungen der Acetylcholinesteraseaktivität im acusticovestilulären System. Wersäll, Hilding und Lundquist (1961) und Rossi (1961) beobachteten Acetylcholinesteraseaktivität in den efferenten Nervenfasern. Der Gehalt efferenter Nervenfasern an Acetylcholinesterase wurde von Del Bo und Conti (1961) zu embryologischen Studien benutzt und von Gacek, Nomura und Ba-

logh (1965) für eine genaue Untersuchung des anatomischen Verlaufes von efferenten Fasern verwandt.

Kaneko und Daly (1968) fanden elektronenmikroskopisch Acetylcholineseterase an der Plasmamembran der radialen Tunnelfasern und an ihren granulierten Nervenendigungen. In den Vesikeln selbst fand sich keine Acetylcholinesterase. Auch Iurato, Luciano, Pannese und Reale (1971) konnten in den granulierten Nervenendigungen selbst keine Acetylcholinesterase nachweisen. Die Autoren konnten das Enzym an den Plasmamembranen der kleinen efferenten Fasern und den präsynaptischen Vergrößerungen im inneren Spiralbündel an den oberen radialen Tunnelfasern und an den großen efferenten Nervenendigungen, die die Synapsen mit den Haarzellen und den afferenten Fasern bilden, beobachten. Die Tatsache, daß Acetylcholinesterase an den efferenten Nervenendigungen vorkommt, ist für die Behauptung, daß Acetylcholin der efferente Transmitter sei, nicht ausreichend (Lewis, Shute und Silver 1967). Z.B. findet sich auch an den Erythrozyten Acetylcholinesterase.

6.1.5. Acetylcholin und die Wirkung pharmakologisch verwandter Substanzen am Cortischen Organ

Die hohe Acetylcholinesteraseaktivität in der Cochlea veranlaßte Gisselson (1960) zur intrarteriellen Injektion von Acetylcholin. Als danach die Aktionspotentiale des Nervus cochlearis verschwanden, war der Autor sich nicht sicher, ob es sich um einen unspezifischen Effekt handele. Gisselson (1960) applizierte deshalb Acetylcholin mit der doppelläufigen Mikroelektronentechnik lokal in das Cortische Organ. Es wurden dafür Ströme von

von 2×10^{-8} Amp. benutzt. Die Frequenzen der Sinustöne mit denen das Ohr beschallt wurde, waren so gewählt, daß das Maximum der Auslenkung der Basilarmembran bei den Haarzellen lag, von denen die Mikroelektroden ableiteten. Gisselson (1960) beobachtete nach Applikation eine Amplitudenvergrößerung der Mikrophonpotentiale, ähnlich wie sie durch efferente Aktivität hervorgerufen wird. Ein Effekt auf die Aktionspotentiale wurde nicht untersucht.

Der Autor kommt zu dem Schluß, daß Acetylcholin der Transmitter für das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel sei.

Sohmer und Feinmesser (1963) konnten eine Wirkung von Acetylcholin und pharmakologisch verwandten Drogen auf endocochleäre Potentiale nicht bestätigen. Die Untersucher verwendeten verschiedene Applikationsmethoden.

Einmal plazierten sie die Testsubstanzen an die runde Fenstermembran von Katzen. In anderen Versuchen wurden durch ein Loch in der Wand der Cochlea in Apexnähe verschiedene Konzentrationen bis zu 10 mg/ml injiziert. Ein andermal wurde durch ein Loch der runden Fenstermembran in die Scala tympani injiziert. Auch intraarterielle Injektionen blieben ohne Erfolg.

Die Untersuchungsergebnisse von Katsuki, Tanaka und Miyoshi (1965) und Tanaka und Katsuki (1966) widersprechen den Befunden von Gisselson (1960).

In den Versuchen wurden ebenfalls die Mikroelektrophoresetechnik benutzt. Es wurden aber stärkere Ströme verwendet, als Gisselson (1960) sie benutzte. Sie betrugen 8×10^{-6} Amp. und wurden in Perioden von 20 Min. eingesetzt.

Die endocochleären Potentiale sollen davon unbeeinflusst geblieben sein. Die Applikation von verschiedenen Ionen besonders Natrium, Kalzium und Chlorid war ohne Effekt. Unter Einwirkung von Acetylcholin verkleinerten sich die Amplituden der Mikrophonpotentiale. Der gleiche Effekt wurde nach Prostigmin, einem Acetylcholinesterasehemmer beobachtet. Eine Amplitudenverkleinerung des N_1 durch Acetylcholin und Prostigmin war nicht so deutlich. Auch d.-Tubocurarin, das mit 4×10^{-6} Amp. appliziert wurde, führte zu einer Verkleinerung der Mikrophonpotentiale. Bei Applikation von Curare und Acetylcholin hintereinander, nahm die Amplitude der Mikrophonpotentiale unter Acetylcholin nicht mehr weiter ab. Die Autoren sahen darin eine antagonistische Wirkung beider Substanzen. Allerdings konnte mit Curare der COCB-Effekt nicht aufgehoben werden.

Neben den genannten Substanzen wurden in der Untersuchung GABA, Strychnin, Adrenalin und Atropin elektrophoretisch appliziert, zeigten aber keine Wirkung.

Der inhibitorische Effekt des gekreuzten Olivocochleären Bündels wurde jedoch durch intravenöse Injektion von Strychnin aufgehoben. Zur Relaxation der Atemmuskeln ausreichende Dosen von Dihydro- β -erythroidin zeigten intravenös keinerlei Wirkungen am Cortischen Organ. Die Wirkung einer Blutperilymphschranke wurde in Erwägung gezogen. Die Autoren schlossen auf Grund dieser Untersuchungen Acetylcholin als efferenten Transmitter aus, meinten aber, daß die Membran der Haarzellen acetylcholinempfindlich sei.

Weder Gisselson (1960) noch Katsuki et al. geben in ihren Arbeiten die Konzentration von Acetylcholin und Curare an. Tanaka und Katsuki (1966) geben immerhin die Zeit der elektrophoretischen

Applikation mit 20 Min. an. Ein wichtiger Faktor dürfte bei elektrophoretischer Applikation die Registrierung der Cochleamikrophonpotentiale an der Applikationsstelle sein, wie sie von Gisselson (1960) vorgenommen wurde.

Nachdem Fex, Fuxe und Lennerstrand (1964) die Applikation von Dopamin, Nor-Adrenalin und 5-hydroxytryptamin ohne Wirkung fanden, injizierte Fex (1968) eine künstliche Perilymphe, die 1,3 mmol Kalziumchlorid und $0,7 \times 10^{-6}$ g/ml d. Tubocurarinchlorid enthielt, in die Scala tympani von Katzen. Dabei beobachtete der Autor, daß die durch elektrische Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels erzeugten Gleichspannungspotentiale bei Registrierung in der Scala media verändert wurden. Die Latenz und die Anstiegssteilheit wurde verlängert, und die Amplitude nahm ab. Die Auswaschung erfolgte mit einer Perilymphe, die 5 mmol. CaCl_2 enthielt und natürlich frei von Curare war. Der inhibitorische Reizeffekt erholte sich damit schneller, als wenn mit einer 1,3 mmol. Ca^{++} haltigen Perilymphe ausgewaschen wurde. Die Widersprüche zwischen seinen Befunden und denen von Katsuki, Tanaka und Miyoshi (1965), bzw. Tanaka und Katsuki (1966), die nach Curare kaum eine Veränderung des Summenaktionspotentials feststellen konnten, versucht Fex (1968) damit zu erklären, daß die von ihm registrierten DC-Potentiale von den zahlreicheren äußeren Haarzellen kämen. Beim Summenaktionspotential würden möglicherweise hauptsächlich die afferenten Fasern eine Rolle spielen, von denen die meisten die inneren Haarzellen versorgen.

Wenn jedoch die Fasern des gekreuzten Bündels auch unter die inneren Haarzellen ziehen, könnten sie über die dort vorhandenen axodendritischen Synapsen eine Depression des Summenaktionspotentials verursachen.

Grundsätzlich hält Fex (1968) drei Erklärungen für die Wirkungsweise von Curare möglich:

1. Eine Leitungsblockierung an den unmyelinisierten Teilen der Olivo-cochleären Fasern, die der Autor jedoch auf Grund der Experimente von Armett und Ritchie (1961) am Vagus für unwahrscheinlich hält.
2. Eine Leitfähigkeitsänderung der subsynaptischen Membran der Haarzellen unter dem efferenten Endigungen. Dagegen spricht nach Fex jedoch die nur geringe Änderung des Ruhepotentials nach Curare.
3. Eine Interferenz zwischen efferentem Transmitter und Curare präsynaptisch oder postsynaptisch oder an beiden Stellen, die er für das Wahrscheinlichste hält.

Fex (1968) teilt Ergebnisse mit, nach denen es ihm gelang einen höheren Gehalt an Acetylcholin nach elektrischer Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels in der Perilymphe nachzuweisen. Guth, Burton und Norris (1972) bestätigen diese Befunde.

Amaro, Guth und Wanderlinder (1966) beobachteten nach intraarterieller Injektion von Acetylcholin in Dosen von 10 bis 20 $\mu\text{g/kg}$ bei Katzen eine Amplitudenverkleinerung des Summenaktionspotentials in der Ableitung vom runden Fenster. Der Effekt kam nicht zustande, wenn die Katzen mit Atropin vorbehandelt waren. Intrarterielle Injektion von Physostigmin 0,3 bis 0,6 mg/kg hatte den gleichen Effekt wie Acetylcholin. Darüberhinaus trat eine zweite hemmende Phase nach 15 Min. auf. Diese konnte durch Atropin unterdrückt werden. Die erste hemmende Phase von Physostigmin dagegen nicht. Demnach bestünde ein Unterschied zwischen der hemmenden Phase des Acetylcholin und der ersten Phase der Physostigminwirkung.

Die Autoren interpretieren das als eine direkte Wirkung des Physostigmins auf die Rezeptoren. Nur die zweite hemmende Periode käme durch eine Cholin-esteraseinhibition zustande.

Guth und Amaro (1969) injizierten bei Katzen intraarteriell Hemicholin-3 (HC-3). Diese Substanz verhindert präsynaptisch die Aufnahme, den Transport und die Aktivierung von Cholin. Wie bei vielen acetylcholinverwandten Stoffen kann es aber darüberhinaus postsynaptisch am Rezeptor zu einer Interferenz mit Acetylcholin im Sinne einer kompetitiven Verdrängung kommen (Schueler 1960, Mac Intosh 1961, Martin und Orkand 1961, Thies und Brooks 1961, Elmquist und Quastel 1965).

Guth und Amaro (1969) verwendeten Dosen von 0,5 mg/kg. Die inhibierende Wirkung auf das Summenaktionspotential nach Reiz des Olivo-cochleären Bündels wurde durch die intraarterielle Injektion von Hemicholin bei einigen Tieren völlig aufgehoben. Cholininjektionen führten zu einer vorübergehenden Erholung des Reizeffektes. Wenn die kontinuierliche Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels für kurze Zeit unterbrochen wurde, kam es zu einer teilweisen Erholung des inhibitorischen Reizeffektes. Diese Reaktion halten die Autoren für eine curareähnlich postsynaptische Wirkungsweise untypisch. Wie dem auch sei, sehen sie die Hemicholinwirkung als einen starken Hinweis auf eine Transmitterfunktion von Acetylcholin an.

Atropin (0,5 bis 6 mg/kg), Dihydro- β -erythroidin (2 bis 10 mg/kg) und Mecamylamin (2 bis 5 mg/kg) und auch d. Tubocurarin (2mg/kg) hatten intraarteriell keine Wirkung auf den Reizeffekt des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels.

Bei intraarterieller Injektion von Acetylcholin und Methacholin konnten Daigneault und Brown (1966) bei Katzen eine signifikante Verkleinerung der N_1 -

Komponente des Summenaktionspotentials beobachten. Dabei konnte eine intraarterielle Injektion von Atropin diesen Acetylcholineffekt aufheben. Daigneault, Brown und Pruett (1968) beschrieben, daß Acetylcholin (20 μ g) seine Wirkung nach intraarterieller Applikation beibehielt, auch wenn der achte Hirnnerv bei der Katze durchtrennt war. Die Autoren schlossen daraus auf eine periphere Wirkung von Acetylcholin, d.h. in der Cochlea. Die Veränderung des Summenaktionspotentials nach Durchtrennung oder Leitungsanästhesie mit Lidocain oder Dibucain wurden durch den Ausfall der effektiven Fasern erklärt. In einer weiteren Untersuchung (Brown, Daigneault und Pruett 1969) wurde zu erklären versucht, ob die intravenöse Gabe von Strychnin sowohl die Verkleinerung der N_1 -Amplituden des Summenaktionspotentials, die durch Acetylcholin intraarteriell hervorgerufen wird, aufhebt als auch eine durch Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels bewirkte N_1 -Verminderung unterdrückt. Eine Dosis von 20 bis 25 μ g Acetylcholin führte zu maximaler N_1 -Verkleinerung.

Wenn vorher 0,15 mg/kg Strychnin i.v. gegeben worden war, war Acetylcholin wirkungslos. Eine Dosis von 0,20 mg/kg Strychnin genügte, um die inhibitorische Wirkung auf das N_1 -Summenaktionspotential durch Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels vollständig zu verhindern. Intraarteriell genügten 0,08 mg/kg. Für die Versuche wurden Katzen mit Gallamin relaxiert, auch wiederholte Injektionen von Gallamin intravenös konnten die N_1 -Verkleinerung durch Acetylcholin nicht beeinflussen. Allerdings beobachteten die Untersucher eine Abnahme der N_1 -Amplituden über Stunden. Nach Gabe von Strychnin stieg die N_1 -Amplitude nur vorübergehend an. Nach Acetylcholinapplikation wurden die gleichen Werte für die N_1 -Amplitude wie vor Strychnin beobachtet.

Den kurzfristigen Anstieg nach Strychnin hielten die Autoren durch Ausschaltung eines efferenten Tonus für möglich. Intraarterielle Injektion von 0,20 mg/kg Physostigmin, einem Acetylcholinesterasehemmer, zeigte keine signifikanten Änderungen des COCB-Effektes. Auch die Menge Strychnin, mit der sich der COCB-Effekt blockieren läßt(siehe Kap. 6.2.), bliebe in Kombination mit Physostigmin die gleiche.

Ähnliche Ergebnisse hatten Versuche mit intraarteriellen Dosen von Atropin, eine Substanz, die Acetylcholin speziell an den muscarinempfindlichen Rezeptoren der glatten Muskulatur kompetetiv verdrängt. Auch Gallamin und Mecamylamin waren intraarteriell erfolglos.

Die Autoren halten einerseits eine Permeabilitätschranke der Cochlea für diese Substanzen möglich, auf der anderen Seite weisen sie auf die selektive Wirkung dieser Pharmaka für einen Teil cholinergere Synapsen hin. Bei intraarteriell gegebenem Atropin hatten Daigneault und Brown (1966) eine antagonistische Wirkung zu intraarteriell injiziertem Acetylcholin festgestellt.

Im Gegensatz dazu konnte Atropin den durch elektrische Reizung erzeugten COCB-Effekt nicht blockieren (Brown, Daigneault und Pruett 1969 a).

Die Autoren versuchen diesen Unterschied in den Befunden durch eine bessere Interaktion mit exogenem Acetylcholin zu erklären, indem sie auf Untersuchungen am Gastrointestinaltrakt und der Blase hinweisen, die von Innes und Nickerson (1965) gemacht wurden.

Bobbin und Konishi (1971) berichten über eine den COCB-Effekt mimende Wirkung des Acetylcholins. Die Autoren durchspülten die Scala tympani von Meerschweinchen mit einer Ferilymphe. Wenn die

Lösung Acetylcholin (250 μ mol.) enthielt, soll der COCB-Effekt leicht vermindert worden sein. Eserinsulfat (10 μ mol.) , ein Cholinesterasehemmer, hatte dagegen allein keine spezifische Wirkung. Nach Kombination beider Substanzen beschreiben die Autoren eine Abnahme des COCB-Effektes auf Mikrophon- und Summenaktionspotential. In der graphischen Darstellung wird kurz nach Beginn der Instillation eine Vergrößerung der Mikrophonpotentiale und eine Größenabnahme der Summenaktionspotentiale ohne Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels demonstriert. Dieser mimende Effekt verschwindet aber bereits in wenigen Minuten während die Instillation noch andauert. Erstaunlicherweise läßt sich eine mimende Wirkung des Acetylcholins an den langsamen Potentialänderungen der Scala media, so wie sie in der Graphik dargestellt werden, nicht erkennen. Die Autoren machen dazu keine näheren Angaben. Die bisher geschilderten pharmakologischen Untersuchungen beschäftigen sich mit der Wirkung von cholinergen Substanzen auf die Potentiale am Ohr, speziell auf die Potentialveränderungen nach elektrischer Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels. Die Ergebnisse sind keineswegs einheitlich interpretiert. Für viele Substanzen, die verwendet wurden, lassen sich sowohl positive, wie auch negative Befunde anführen. Das liegt sicher auch zu einem großen Teil daran, wie das Pharmakon an die efferenten Synapsen appliziert wurde. Das dürfte besonders für die intravenösen und intraarteriellen Injektionen zutreffen, wenn die Hypothese einer Blut-perilymphschanke richtig ist. Den positiven Befunden kommt sicher eine größere Bedeutung zu, wenn man berücksichtigt, daß andere von denselben Untersuchern, im gleichen Verfahren getestete Drogen, die nicht zum cholinergen System gehören,

keine Wirkung hatten. Eine Ausnahme davon bildet Strychnin, ein Alkaloid, das schon einige Male erwähnt wurde. Da diese Substanz nach Meinung verschiedener Autoren möglicherweise einen Hinweis auf einen anderen Transmitter der efferenten Synapsen am Cortischen Organ gibt, soll auf diese Befunde besonders eingegangen werden.

6.2. Die Wirkung nichtcholinerg- er Pharmaka an den efferen- ten Synapsen

Für eine Erklärung der Wirkungsweise von Strychnin an der Cochlea spielen vergleichende Überlegungen zu den Verhältnissen an den Renshawzellen des Rückenmarks eine Rolle. Die Hemmung von Motoneuronen über die Renshawzellen wird durch die verwandten Alkaloide Strychnin und Brucein postsynaptisch blockiert (Bradley, Easton und Eccles 1953, Fatt 1954, Eccles 1957, Curtis 1959). Die Untersuchungen von Curtis, Hösli und Johnston (1967) und Werman, Davidoff und Aprison (1966) konnten Glycin als hemmenden Transmitter der Renshawzellen identifizieren. Wenn Strychnin eine spezifisch mit Glycin interferierende postsynaptische Wirkung hätte, ließe sich aus der Strychninwirkung auf Glycin als Überträgerstoff an den betreffenden Synapsen schließen. Das Gleiche gilt für Brucein.

Auf diese Überlegung beziehen sich die Arbeiten von Desmedt und Monaco (1960 und 1961 a). In ihren Untersuchungen wurde Katzen 0,05 bis 0,15 mg/kg Strychninsulfat iv. injiziert. Danach kam es zu einem Ausfall des COCB-Effektes auf das Summenaktionspotential und die Mikrophonpotentiale. Den gleichen Effekt hatte Brucein. Intravenöse In-

jektionen mit Metrazol, Picrotoxin, Ammoniumchlorid, Eserin und Dihydro- β -erythroidin hatten keinen spezifischen Effekt.

In weiteren Untersuchungen applizierten Desmedt und Monaco (1961 b) Strychnin in der Verdünnung 1:400 lokal an die runde Fenstermembran einer Seite. Es kam hier zu einer einseitigen erheblichen Abnahme des COCB-Effektes. Metrazol und Picrotoxin in krampfauslösenden Dosen hatten keine Wirkung.

Auch Thiosemicarbazid, ein Decarboxylasehemmer, der den enzymatischen Abbau von GABA verhindert, blieb erfolglos. In weiteren Untersuchungen fanden Desmedt und Delwaide (1963) und Desmedt und La Grutta (1963) die blockierende Wirkung von Strychnin auf den COCB-Effekt bestätigt. Neben Strychnin und Brucein wurde auch Coniin als blockierende Substanz beschrieben (La Grutta und Desmedt 1964).

Desmedt und Monaco (1961 a und b) hatten aus dem gleichartigen Effekt von Strychnin auf die efferenten Synapsen am Cortischen Organ und auf die Renshawzellen geschlossen, daß dieselbe oder eine verwandte Substanz für beide inhibitorischen Systeme als Transmitter in Frage kommt. Für die Renshawzellen konnte Glycin mit ziemlicher Sicherheit identifiziert werden (Werman, Davidoff und Aprison 1966, Curtis, Hösli und Johnston 1967).

Allerdings blieben intraarterielle Injektionen von Glycin ohne Wirkung auf das Summenaktionspotential (Daigneault und Brown 1969).

Im Unterschied zu den Befunden über cholinerge Pharmaka an den akustischen Efferenzen ist Curare als Acetylcholinantagonist an den Renshawzellen nicht wirksam, wie Untersuchungen von Curtis (1959, 1969) zeigen.

Um die Analogie zwischen den efferenten Synapsen und den Renshawzellen weiter zu untersuchen, benutzten Klinke et al. (1973) Tetanustoxin, das im Gegensatz zu dem postsynaptisch blockierenden Strychnin (Curtis 1969) die Transmitterfreisetzung an den Renshawzellen präsynaptisch hemmen soll (Curtis und de Groat 1968). Bei insgesamt zehn Katzen wurde tetanustoxinhaltige Perilymph in die Scala tympani instilliert. Es kam danach zu einer Blockierung des COCB-Effektes auf Mikrophon- und Summenaktionspotential.

Im Gegensatz zu Versuchen mit anderen blockenden Substanzen war die Tetanustoxinwirkung auch nach Spülen mit toxinfreier Lösung nicht reversibel. Die Autoren sehen in ihren Ergebnissen zwar eine Analogie zu den Verhältnissen an den Renshawzellen bestätigt, weisen jedoch darauf hin, daß ihre Befunde Acetylcholin keineswegs als Transmitter ausschließen.

Untersuchungen, die γ -Aminobuttersäure (GABA) als möglichen Transmitter der efferenten Synapsen in Erwägung zogen, verliefen fast durchweg negativ.

Sowohl die mikroelektrophoretische Applikation von GABA (Tanaka und Katsuki 1966) als auch die intracochleäre Applikation (Bobbin und Guth 1970) blieben erfolglos. Desgleichen verliefen intraarterielle Injektionen mit GABA (Bobbin und Guth 1969).

Lediglich Aminoxyessigsäure, ein Transaminasenblocker wirkte nach i.v. Applikation reduzierend auf Mikrophon- und Summenaktionspotential, konnte aber den COCB-Effekt nicht blockieren (Bobbin, Gonzales und Guth 1969).

Dagegen soll Prostaglandin E_1 , i.a., in der Lage sein, den COCB-Effekt zu verringern (Daigneault und Brown 1969 b und Brown 1972).

7. Ausführliche Darstellung eigener Untersuchungen

7.1. Fragestellung

Eine Reihe von Argumenten, besonders die histochemischen Befunde über die Anwesenheit von Acetylcholinesterase an den efferenten Fasern des Cortischen Organs (s. Kap. 6.1.4.) und die Untersuchungen von Fex (1968), die einen erhöhten Gehalt an Acetylcholin in der Perilymphe nach efferenter Stimulation ergaben (s. Kap. 6.1.5.), sprachen für Acetylcholin als Transmitter in den efferenten Synapsen. Dem entgegen standen jedoch vor allem die Befunde von Desmedt und Monaco (1960, 1961 a und b), Desmedt und Delwaide (1963) und Desmedt und La Grutta (1963), nach denen Strychnin erfolgreich den COCB-Effekt zu blockieren vermochte und die die Annahme von Acetylcholin als Transmitter zweifelhaft erscheinen ließen. Wenn Acetylcholin in den efferenten Synapsen Transmitterfunktionen hat, sollten bekannte Anticholinergika oder andere Substanzen, die an cholinergen Synapsen in spezifischer Weise mit Acetylcholin interferieren, auch an den efferenten Synapsen dazu in der Lage sein. Dies war jedoch bei den in der Literatur beschriebenen Experimenten nicht immer der Fall (s. Kap. 6.1.5.)

Eine möglichst direkte Applikation der Testsubstanzen durch Instillation in die Scala tympani erschien uns dabei in Anbetracht einer möglicherweise vorhandenen Blutperilymphschranke am besten.

7.2. Methodik

7.2.1. Operationstechnik:

Als Versuchstiere wurden gesunde, junge männliche und weibliche Katzen gewählt. Die Tiere erhielten

0,5 mg Atropin intraperitoneal und wurden mit 32 mg/kg Narcoren i.p. narkotisiert. An einem Hinterbein wurde die Vena saphena magna freipräpariert und in die eröffnete Vene ein weicher Plastikschlauch von 1 mm Durchmesser in die Vena cava inferior vorgeschoben. Über diesen Katheter wurde während des Versuches vermittels eines Injektomaten (Braun Melsungen Typ 1831) 5 ml/h Ringer-Glukose-lösung (s. Kap. 7.2.4.) infundiert. Nach Tracheotomie wurde durch eine Trachealkanüle die Möglichkeit einer Beatmung sichergestellt. Anschließend wurde mit einem Medianschnitt der Schädelknochen freigelegt und von der Nasenwurzel bis zu den Ohren und kurz über die Linea nuchae hinaus freipräpariert. Um den Kopf später in ein stereotaktisches Gerät einspannen zu können, wurde über der vorderen Fontanelle ein ca. 2 cm² großer Kopfhalter mit Zahnzement (Palladur) befestigt. Dann wurde auf beiden Seiten der äußere Ohrkanal freipräpariert und ca. 0,5 cm distal vom Knochen durchtrennt. Darauf wurde die Bulla unter möglicher Schonung der Gefäße freigelegt. Mit einem Zahnbohrer wurden die Mittelohren zwischen dem porus acusticus externus und der Bulla von hinten unter eröffnet. Nach Abtrennung eines von oben in das Cavum tympani vorspringenden, sichtbehindernden Knorpeldorns wurden die Mittelohrmuskeln unter dem Mikroskop elektrisch gekautert. Mit Hilfe eines Zahnbohrers wurde die Bulla in Richtung auf das runde Fenster eröffnet und das Bohrloch vorsichtig erweitert. Danach wurde die runde Fenstermembran an ihrem unteren Ende unter allergrößter Sorgfalt mit Nadelinstrumenten gelöst. In dieses Loch ließ sich eine an ihrem unteren Ende gewinkelte 20iger Injektionskanüle einhängen, deren Isolierung bis kurz vor die Spitze reichte (s. Abb. 3). Sie war an einen Plastikschlauch angeschlossen, der

vorher luftblasenfrei mit künstlicher Perilymphe gefüllt worden war. Diese Kanüle diente gleichzeitig zur Instillation der Testlösungen und als differente Ableiterelektrode. Als indifferente Elektrode wurde ein isolierter an der Spitze chlorierter Silberdraht benutzt, der am Knochen der Bulla wie auch die Instillationselektrode mit Zahnzement befestigt wurde. Dann wurde eine ca. 2 cm² große längsovale Knochenplatte aus dem Hinterhauptbein gefräst. Nach sorgfältiger Spaltung der Dura mater konnte der mittlere Teil des Kleinhirns abgesaugt werden, sodaß der Blick auf den Boden des vierten Ventrikels und den Obex frei wurde. Zwei im Abstand von 1,5 mm fixierte feingespitzte Wolframelektroden wurden dann in ihrer Halterung soweit vorgetrieben, daß ihre Spitze ungefähr 1/10 mm in die Medianlinie am Boden des vierten Ventrikels ca. 8 mm rostral vom Obex einstachen. Um das knöcherne Tentorium zu umgehen, mußten die Elektroden von hinten in einem Winkel von 45° eingeführt werden.

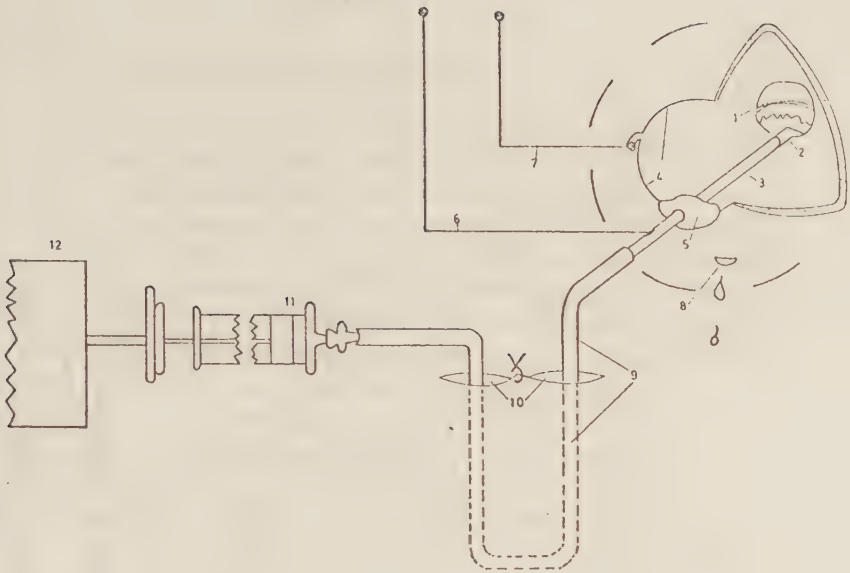
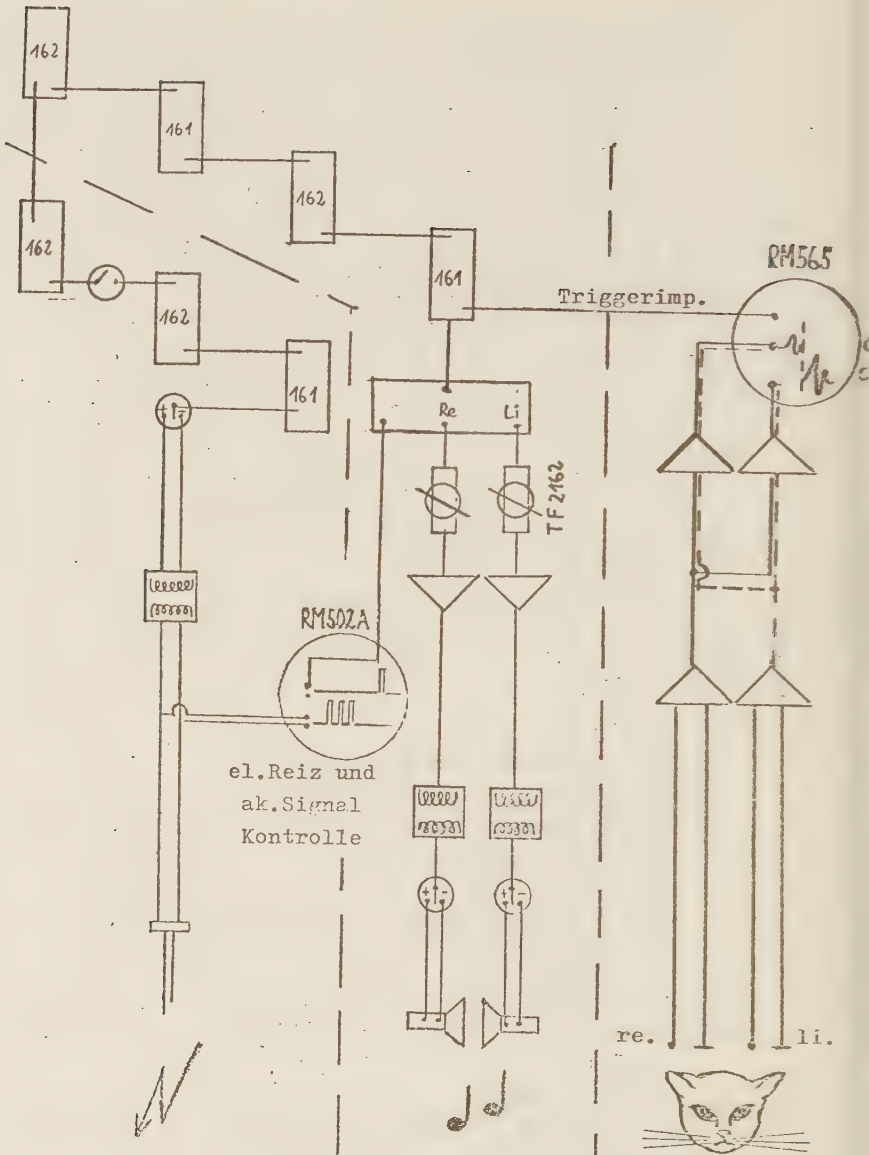


Abb.: 3

1. Rundes Fenster (eröffnet)
2. gewinkelte Kanülenspitze
3. Isolierung der Kanüle bis kurz vor die Spitze
4. Borloch in der Bulla
5. Befestigung der Kanüle mit Zahnzement
6. differente Elektrode (Kanüle)
7. indifferente Elektrode (am Knochen der Bulla)
8. Abflußloch
9. Plastikschilauch (teilweise unter der Haut ge-
führt)
10. Hautschnitt
11. Spritze für Instillation (elektrisch isoliert)
12. Hydraulik



el.Reiz

ak.Signal

Registrierung

Abb.: 4

7.2.2. Die elektrische und akustische Reizapplikation :

Die elektrische Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels erfolgte bipolar über die gegeneinander gepolten Wolframelektroden. Die Schaltung der Reizapparatur für den elektrischen Reiz läßt sich aus Abb. 4 entnehmen. Bei den Einzel-elementen handelt es sich um folgende Geräte:

- 2 Tektronix Type 162 waveform generator
- 1 Tektronix Type 161 pulseform generator
- 1 Trenntransformator
- 2 Schalter
- 2 Wolframelektroden

Das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel wurde mit Rechteckimpulsen ca. 2,5 V und 400 Imp./sec. über einen Trenntransformator gereizt. Die Dauer der Reizung betrug 0,2 bis 0,25 sec.

Die Polung der Wolframelektroden wurde von der Größe des Reizerfolges abhängig gemacht. Ca. 5 msec. nach elektrischem Reizende erfolgte das akustische Signal in Form eines Klicks von 0,06 msec. Dauer, der theoretisch einem Diracimpuls entsprechen sollte (zum Schema der Reizanordnung s. Abb. 5). Die Klicks wurden in einem Meßbereich von ca. 30 bis 90 dB_{SPL}, der eine gleichzeitige aber auch trennscharfe Registrierung von Mikrophon- und Summenaktionspotential erlaubte, über Ohrhörer dargeboten. Die Ohrhörer ragten ein kurzes Stück in den aufgeschnittenen äußeren Gehörgang hinein, der nach außen, um die Ohrhörer herum, mit Vaseline abgedichtet wurde. Darüberhinaus befanden sich die Versuchstiere während des Experimentes in einer schallabgeschirmten Kammer.

Der tatsächliche Schalldruck vor dem Trommelfell konnte über Mikrophone kontrolliert werden, die in die Ohrhörer eingebaut waren.

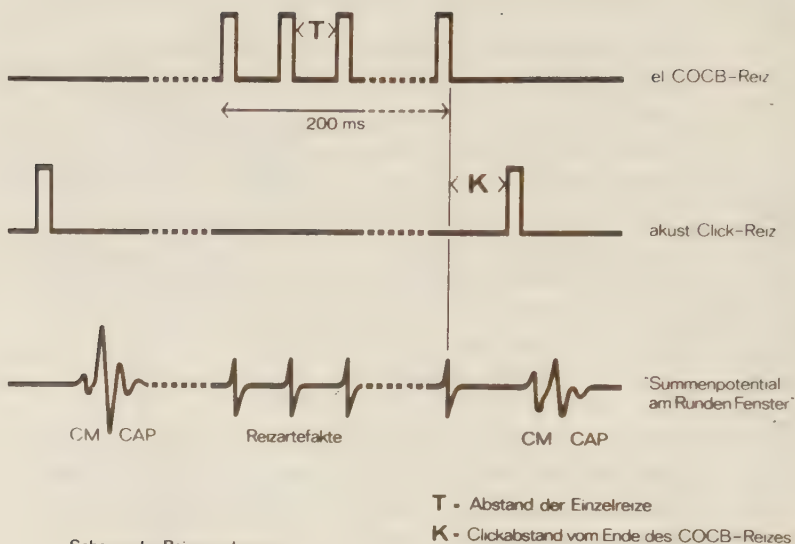


Abb.: 5

Zur Herstellung und Auslösung des akustischen Signals wurden folgende Geräte benutzt (s. auch Blockschaltbild Abb. 4):

- 2 Tektronix Type 162 waveform generator
(einschließlich master trigger)
- 2 Tektronix Type 161 pulse generator
- 2 Marconi TF 2162 Attenuator
- 2 Stange und Wolfrum Leistungsverstärker
EV Nr. B 2029 bzw. 2030
- 2 Trenntransformatoren
- 1 Verteiler
- 2 Schalter
- 2 Piezo-elektrische Wandler

7.2.3. Registrierung:

Die Registrierung von Mikrophon- und Summenaktionspotentialen am Ohr erfolgte über die Instillationselektroden und die indifferenten Gegenelektroden an den jeweiligen Seiten. Eine geringe Entfernung von differenter und indifferenter Elektrode an jedem Ohr empfahl sich, um das Streuen von Muskelpotentialen möglichst gering zu halten. Mikrophon- und Summenaktionspotentiale wurden 100 fach verstärkt und in einer Bandbreite von 80 Hz bis 10 kHz gefiltert.

Je nach Größe des Signals wurden weitere Verstärker so eingestellt, daß die Mikrophon- und Summenaktionspotentiale gleichzeitig auf einem Oszillographen abgebildet werden konnten. Abgelesen wurde von einem Zweistrahloszillographen, wobei auf einem Strahl nur das Mikrophonpotential dagegen auf dem anderen Strahl nur die N_1 -Komponente des Summenaktionspotentials (Spitze-Spitze) durch Helltastung sichtbar gemacht wurde. Die horizontale Ablenkung des Oszillographen wurde anfänglich durch die Reizapparatur ausgelöst. Später wurde nur die Zeitablenkung des Oszillographen bis zu 17 Min. für einen Durchlauf extrem niedrig gehalten, wobei nur die hellgetasteten Mikrophon- bzw. die N_1 -Komponente des Summenaktionspotentials aufgezeichnet wurden. Sämtliche Impulse während eines Durchgangs des Oszillographenstrahls wurden bei offener Kamera und 17 Min. dauernder Belichtung auf einem Foto festgehalten.

Folgende Geräte dienten der Registrierung (s. auch Blockschaltbild Abb. 4, Helltastung nicht berücksichtigt):

- 1 Tektronix Type RM 565
dual-beam oscilloscope
- + Verstärkereinschub Type 3 A 74
und Type 2 A 61

- 1 Tektronix Type 162 waveform generator
(verändert für externe Zeitablenkung am
565 von 17 Min.)
- 2 Tektronix Type RM 122 preamplifier
- 4 Elektroden (s. Text)
- 1 Tektronix Type RM 502 A dual-beam oscillo-
scope (zur Kontrolle des elek. und akustischen
Reizes)

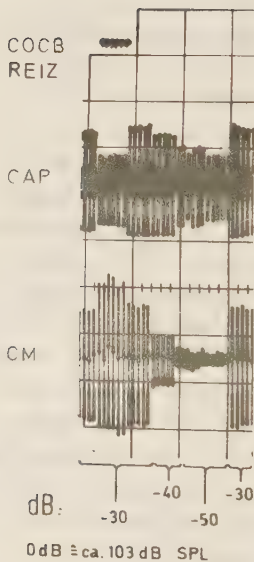


Abb.: 6
vor Atropin



Abb.: 7
3 min. nach
Atropin $5,5 \times 10^{-4}$
molar

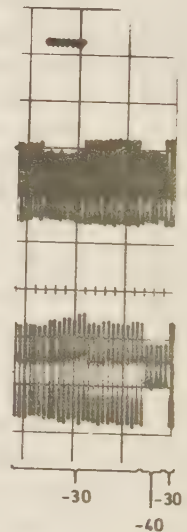


Abb.: 8
nach Spülung
mit künstl.
Perilymphe

Die Abbildungen 6,7 und 8 sind Originalregistrierungen

aus einem Instillationsversuch mit Atropin. Durch Helltastung kommen auf dem unteren Strahl des Oszillographen die Mikrophonpotentiale zur Darstellung. Der obere Strahl gibt die entsprechenden Summenaktionspotentiale wieder. Die Horizontalablenkung liegt bei ca. 17 Min. für einen Durchlauf. Der Abstand zwischen den einzelnen Potentialen ist durch die Häufigkeit der Klicks pro Zeiteinheit mit denenbeschallt wird gegeben und beträgt hier 10 sec. Auf den Abbildungen befindet sich ganz oben eine Markierung für die elek. Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels. Die Zahlenangaben am unteren Rand kennzeichnen den Schalldruckpegel in dB unter Vollaussteuerung, wobei Vollaussteuerung ca. 103 dB_{SPL} entsprach.

Abb. 6 demonstriert den Zustand zu Beginn des Experimentes. Ein Ohr des Versuchstieres wird mit -30 dB beschallt. Bei Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels kommt es auf der unteren Spur des Oszillographen zu einer Vergrößerung der Mikrophonpotentiale während auf der oberen Spur eine Größenabnahme der entsprechenden Summenaktionspotentiale zu beobachten ist. Sobald das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel nicht mehr gereizt wird stellen sich Verhältnisse wie am Anfang her. Zum Vergleich wird der Schalldruckpegel auf -40 dB vermindert. Sowohl die Amplitude der Mikrophonpotentiale als auch der Summenaktionspotentiale nimmt ab. Nach einer weiteren Reduktion des Schalldrucks auf -50 dB entsprechen die Summenaktionspotentiale ohne elek. Reizung der Efferenzen ungefähr denen bei -30 dB und elek. Reizung in der Größe ihrer Amplitude. Der COCB-Effekt beträgt in seiner Wirkung auf das Summenaktionspotential also ca. 20 dB. Am Ende der Registrierung werden wieder Klicks mit -30 dB ohne elek. Reiz dargeboten.

Abb. 7 gibt den Zustand ca. 3 Min. nach Instillation einer $5,5 \times 10^{-4}$ molaren Atropinlösung in die Perilymphe wieder.

Es wird mit -30 dB unter Vollaussteuerung beschallt. Die elek. Reizung der Efferenzen hat keine Wirkung mehr auf die Größe der Potentiale. Der COCB-Effekt läßt sich nicht mehr nachweisen. Atropin blockt.

Abb. 8 zeigt die beginnende Erholung des COCB-Effektes nach Spülung mit atropinfreier Perilymphe. Bei -30 dB und elek. Reizung der Efferenzen läßt sich wieder eine Reduktion der Summenaktionspotentiale feststellen. Der COCB-Effekt ist auch an der Vergrößerung der Mikrophonpotentiale zu erkennen. Zum Vergleich wird mit -40 dB beschallt.

Die Abb. 9 - 13 aus einem Instillationsversuch mit Atropin sollen beispielhaft die Auswertung unserer Versuche demonstrieren. Es handelt sich um input-output Funktionen. Die Größe der Mikrophonpotentiale und der N_1 -Komponenten der Summenaktionspotentiale sind auf der Ordinate in mV gegen den Schalldruckpegel in dB unter Vollaussteuerung auf der Abszisse abgetragen. Vollaussteuerung entsprach dabei ca. 103 dB_{SPL}. Die ausgezogenen Linien geben die Werte beider Potentiale ohne elek. Reiz, die unterbrochenen Linien mit elek. Reiz des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels wieder. Hohe Schalldrucke können hinsichtlich des Summenaktionspotential nicht ausgewertet werden, da Nachschwankungen des Mikrophonpotentials die reine Darstellung des Summenaktionspotentials verhindern.

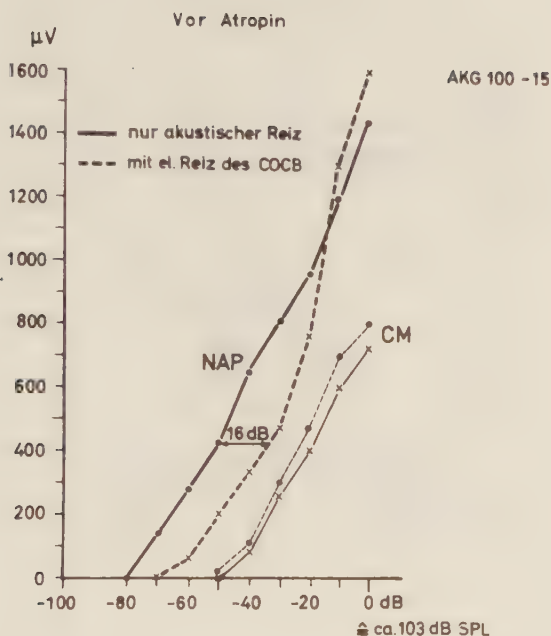


Abb.: 9

Abb. 9 gibt die input- output Funktion des getesteten Ohres vor Instillationsbeginn wieder. Der COCB-Effekt bewirkt hier eine Amplitudenverkleinerung des Summenaktionspotentials, die einer Schalldruckverminderung von 16 dB entspricht. Der Effekt auf das Mikrophonpotential ist wesentlich geringer und sichtbar abhängig von der Höhe des Schalldruckes.

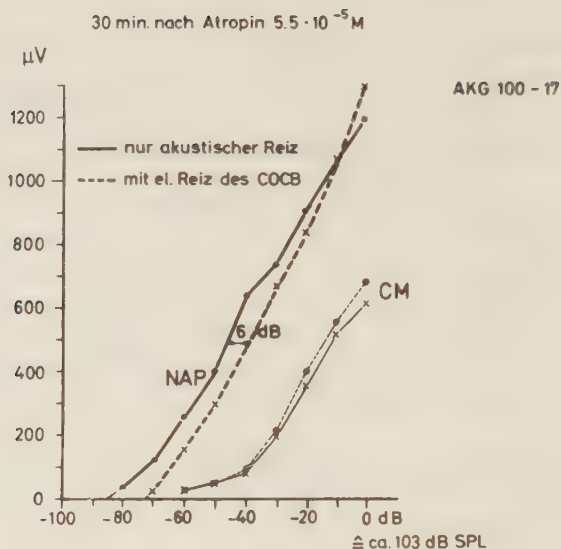


Abb.: 10

Abb. 10 stellt die input- output Funktion desselben Ohres dar 30 Min. nach Instillation von künstlicher Perilymphe, die $5,5 \times 10^{-5} \text{ M/l}$ Atropin enthielt. Der Einfluß der efferenten Inhibition durch die elek. Reizung des COCB entspricht beim Summenaktionspotential nur noch 6 dB.

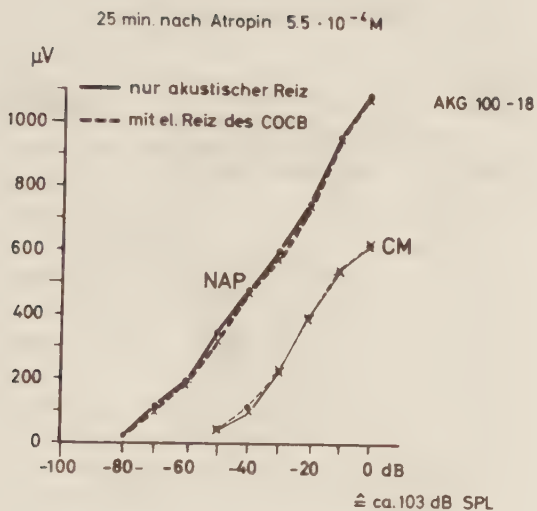


Abb.: 11

Abb. 11 demonstriert, wie es 25 Min. nach Instillation einer Perilymphe, die $5,5 \times 10^{-4}$ molar an Atropin ist, zur völligen Aufhebung des COCB-Effektes gekommen ist. Elek. Reizung des COCB vermag keine Amplitudenveränderung, sowohl der Summenaktionspotentiale als auch der Mikrophonpotentiale zu bewirken.

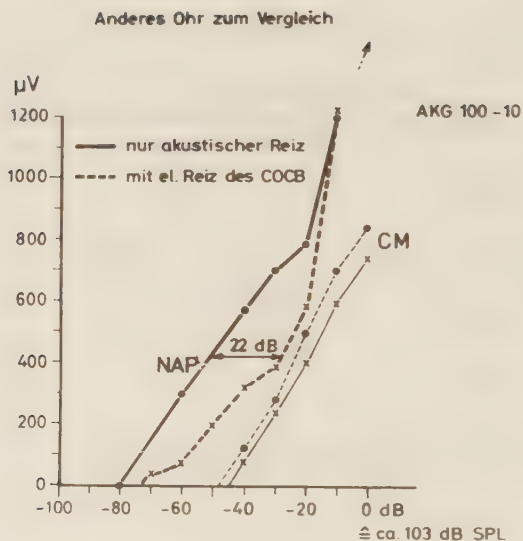


Abb.: 12

Abb. 12 stellt zum Vergleich dagegen die Verhältnisse am anderen Ohr zur gleichen Zeit dar. Es wird gezeigt, daß am Kontrollohr die elek. Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels durchaus noch voll wirksam ist. Der Einfluß auf das Summenaktionspotential entspricht einer Schalldruckdifferenz von 22 dB. Diese Tatsache schließt aus, daß sich im Versuchsverlauf die Position der Reizelektroden verändert hat, oder allgemeinwirkende Faktoren die Versuchsbedingungen für unsere Ergebnisse relevant beeinflußt haben.

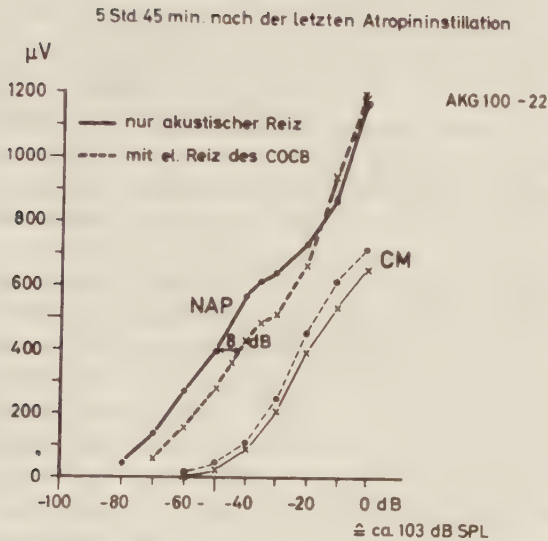


Abb.: 13

Abb. 13 zeigt, in welchem Maße sich die efferente Hemmung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels 5 Std. und 45 Min. nach der letzten Atropininstillation restituiert hat. Der Größenunterschied der N_1 -Komponente vom Summenaktionspotential entspricht bereits wieder einer Schalldruckdifferenz von 8 dB.

7.2.4. Herstellung und Applikation der Testlösungen:

Die Lösung der Testsubstanzen, die durch das runde Fenster instilliert werden sollten, wurde bei den ersten Versuchen in Liquor vorgenommen, der durch

Funktion der Membrana occipitalis gewonnen wurde. Später wurde eine künstliche Perilymphe als Lösungsmittel benutzt.

Sie enthielt NaCl	133,5 mM,	NaHCO ₃	20 mM,
pro Liter: KCl	6,5 mM,	CaCl	2,4 mM,
MgCl ₂	0,4 mM,	Glukose	5 mM.

In einer Weiterentwicklung wurde auch statt Glukose Natriumpyruvat 5 mM/l und ATP 1×10^{-8} M/l verwendet. Um auf jeden Fall sicher zu gehen, daß keine Blockierung der efferenten Fasern durch Kalziummangel erfolgte (Russel 1968, Konishi und Kelsey 1970), wurde die Ca⁺⁺-Menge mit 2,4 mM/l relativ hoch angesetzt. Außerdem wurde die Lösung mit 95% O₂ 5% CO₂ aequilibriert. Um schließlich die Testlösung vor den Instillationen auf Körpertemperatur zu bringen, wurde der zuführende Plastikschauch einige Zentimeter unter der Haut des Tieres entlang geführt. Die Geschwindigkeit der Instillation wurde mit einem Injektomaten (Braun, Melsungen Typ 1831) und einer Hydraulik so eingestellt, daß es zu einer möglichst geringen Affektion des Summenaktionspotentials kam. Eine Geschwindigkeit von 5×10^{-3} ml/min stellte sich als optimal heraus. Oft ließ sich eine Größenabnahme der Summenaktionspotentiale nicht vermeiden. Die Stärke des COCB-Effektes wurde dabei jedoch nicht beeinträchtigt. Die Prüfung der verschiedenen Pharmaka wurde in der Regel so vorgenommen, daß auf beiden Ohren gleichzeitig instilliert wurde. An einem Ohr wurde die Testlösung, auf dem Kontrollohr nur künstliche Perilymphe, instilliert. Die Konzentration der zu testenden Pharmaka wurde üblicherweise bei den einzelnen Versuchen in 10er Potenzen variiert. Kam es nach der Instillation zu einem Verschwinden des COCB-Effektes, auf dem Kontrollohr jedoch nicht, wurde das Pharmakon als wirksamer Blocker betrachtet. Meist bildete sich die Hemmung des COCB-Effektes entweder spontan zurück oder

konnte durch Auswaschen mit künstlicher Perilymphe rückgängig gemacht werden. Dann wurde entweder der Versuch mit dem selben Pharmakon wiederholt oder es wurden Vorversuche mit weiteren Substanzen vorgenommen, die jedoch nur als Vorstudien betrachtet wurden und in unserer Statistik nicht berücksichtigt wurden.

7.3. Prüfung der Untersuchungsmethode

Um uns von der Leistungsfähigkeit der Untersuchungsmethode zu überzeugen, war eine Prüfung notwendig. Die Operationsweise entsprach der beschriebenen Technik. Anschließend wurde am toten Tier eine Farbstofflösung im üblichen Verfahren in den Perilymphraum instilliert. Nach der Instillation wurde der Kopf sofort tiefgefroren. Als dann das Innenohr unter reichlicher Verwendung von CO₂-Schnee aufgebohrt wurde, war eine intensive Färbung bis zu 3/4 der 1. Windung der Cochlea einschließlich der hook portion zu beobachten. Damit war eine ausreichende Bespülung der Basilarmembran erwiesen. In den folgenden Versuchen wurde sowohl die beschriebene Operationsweise als auch die Art der Reizung und der Registrierung als Standardmethode verwandt, Abweichungen davon sollen im folgenden ausdrücklich gekennzeichnet werden.

7.4. Befunde über den Einfluß von Muskelrelaxantien auf den COCB-Effekt

Bekanntlich verdrängen Muskelrelaxantien Acetylcholin kompetitiv am postsynaptischen Rezeptor der Muskelendplatte (s. Kap. 6.1.3.) und blockieren auf diese Weise eine postsynaptische Erregung. Als typische Vertreter dieser pharmakologischen Gruppe

wurden von uns Gallamin (Flaxedil) und Curare benutzt. Im Unterschied zu diesen kompetitiv hemmenden Substanzen führt Succinylcholin, das ebenfalls zur Gruppe der Muskelrelaxantien gehört, bei dem jedoch die aktiven Zentren des Moleküls näher beieinander liegen(s. Strukturformel im Anhang), zu einer Dauerdepolarisation der Muskelendplatte, d.h. Succinylcholin reagiert hier wie Acetylcholin mit dem molekularen Rezeptor. Es wird zwar auch von Esterasen abgebaut, jedoch wesentlich langsamer, da es keine Affinität zu der hochaktiven Acetylcholinesterase besitzt. Bezogen auf die efferenten inhibitorischen Synapsen am Cortischen Organ wäre bei der Annahme ähnlicher Eigenschaften des Rezeptors wie bei der Muskelendplatte nach Applikation von Gallamin oder Curare eine Blockierung des COCB-Effektes zu erwarten oder zumindest seine Verminderung. Nach Verwendung von Succinylcholin müßte sich dagegen eine den COCB-Effekt mimende Wirkung beobachten lassen. !

Für die Testung von Gallamin (Flaxedil) wurden 10 Katzen benutzt, die auf die oben beschriebene Weise operiert worden waren. Allerdings waren die Ohren der Tiere in diesen ersten Versuchen nur einseitig präpariert und statt künstlicher Perilymphe, die in späteren Versuchen als Lösungsmittel der Pharmaka Verwendung fand, wurde Liquor gewonnen, der durch Punktion der Membrana occipitalis gewonnen wurde. Die Testsubstanz Gallamin wurde in 10er Potenzen zunehmenden Konzentrationen instilliert. Die Menge betrug pro Instillation 0,1 bis 0,2 ml von dem das Meiste natürlich aus dem runden Fenster wieder abfloß. Bei einer Verdünnung von 0,02 mg/ml entsprechend einer ca. 2×10^{-5} molaren Gallaminlösung, ließen sich spezifische pharmakologische Wirkungen beobachten. In einer Zeit von 3 bis zu 20 Min. nach der Instillation des

gallaminhaltigen Liquors in die Scala tympani nahm die auf elek. Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels folgende Reduktion des Summenaktionspotentials ab. Der COCB-Effekt, der normalerweise einer Verminderung der Lautstärke um etwas mehr als 20 dB gleichkommt, verschwand vollständig oder fast vollständig. Manchmal blieb ein Rest entsprechend einer Lautstärkenabnahme von 2 bis 4 dB erhalten. Nach Auswaschen des Perilymphraumes mit reinem Liquor erholte sich jedoch der COCB-Effekt innerhalb von 30 bis 60 Min. Die pharmakologische Wirkung war also reversibel. Allerdings kam es zu keiner vollständigen Erholung:

Im Gegensatz zu den geschilderten Befunden (siehe auch Galley, Klinke, Pause, Storch 1971), bei denen Gallamin die Aktivität des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels blockierte, hatte die intravenöse Injektion von Gallamin in Dosen von 20 bis 40 mg/kg, die weit über der relaxierenden Minimaldosis lag, keine Wirkung auf die Reduktion des Summenaktionspotential durch die efferenten Fasern. Auch nach Stunden, in denen Gallamin wiederholt nachgegeben wurde, änderte sich daran nichts.

Bei der eindeutigen Wirkung von Gallamin auf die efferente Inhibition am Cortischen Organ war der pharmakologische Effekt von d. Tubocurarin, einem ebenfalls klinisch gebräuchlichen Relaxans interessant, zumal sich dazu in der Literatur widersprüchliche Angaben fanden (vergl. Kap. 6.1.5.). Für die Versuche wurden vier Katzen nach beschriebener Standardmethode präpariert und die inhibierende Funktion des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels unter dem Einfluß von Curare untersucht, d.h. an je einem Ohr wurde durch eine Instillationselektrode d. Tubocurarin in verschiedenen Verdünnungen in die Scala tympani injiziert. Bei allen Versuchstieren wurde die Abnahme einer Reduktion des Sum-

menaktionspotentials nach elek. Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels beobachtet. Teilweise trat diese spezifische Wirkung bereits bei einer Konzentration von 10^{-4} M/l in der Instillationslösung auf. Nach Instillation von insgesamt 0,45 ml curarehaltigen Liquors nahm die Reduktion des Summenaktionspotentials durch efferente Inhibition von vorher ca. 13 dB bis auf ca. 1 dB ab. Dieser pharmakologische Effekt von d.-Tubocurarin war reversibel, d.h. durch Spülung der Scala tympani ließ sich das Pharmakon auswaschen und der COCB-Effekt nahm wieder zu. Erneute Curareinstillation hatte die gleiche Wirkung wie beim ersten Mal

Sieben Katzen wurden für die Testung von Succinylcholin benutzt. Die Präparation und Untersuchungsmethodik waren wie üblich. Auf je einem Ohr der Tiere wurde Succinylcholinlösung in Liquor oder in künstlicher Perilymphe (s. Kap. 7.2.4.) instilliert. In 6 Experimenten ließ sich eine Wirkung des Succinylcholin deutlich beobachten. Dabei war mindestens eine Konzentration von 6×10^{-4} M/l Succinylcholin in der Instillationslösung notwendig. Geringere Konzentrationen hatten keine Erfolg. Nach Instillation von ca. 0,25 ml Succinylcholinlösung bildete sich im Laufe von ungefähr ca. 15 Min. sowohl die Reduktion des Summenaktionspotential, als auch die Vergrößerung der Mikrofonpotentiale bei elek. Reiz des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels zurück. Wie bei den anderen erfolgreich getesteten Drogen blieb auch hier manchmal ein geringfügiger Rest von wenigen dB, sichtbar in der Reduktion des Summenaktionspotentials, übrig. Diese Tatsache wurde damit erklärt, daß durch die Instillation nur etwa $\frac{3}{4}$ der 1. Windung einschließlich der hook portion der Basilarmembran

bespült werden. Die efferente Wirkung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels auf Summenaktionspotential und Mikrophonpotentiale ließ sich durch Auswaschen der Scala tympani mit Succinylcholin-freier Lösung wieder herstellen. In Abhängigkeit von der applizierten Dosis kehrte der COCB-Effekt auch spontan wieder. Anschließend konnte die Blockierung wiederholt werden.

Als Ergebnis dieser Versuchsserie läßt sich zusammenfassen:

1. Alle drei getesteten Substanzen heben die efferente Inhibition des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels an den efferenten Synapsen auf, indem sie die Übertragung efferenter Information blockieren. Dabei betrugen die minimal wirksamen Konzentrationen für Gallamin (Flaxedil) 2×10^{-5} M/l, für d.-Tubocurarin 1×10^{-4} M/l und für Succinylcholin 6×10^{-4} M/l. Succinylcholin führte bei dieser Konzentration allerdings nur zu einem partiellen Block.
2. Die afferente Aktivität des Cortischen Organs wird nicht beeinflußt, da Mikrophon- und Summenaktionspotentiale ohne efferente Reizung nicht verändert werden.
3. Gallamin und Curare respektive d. Tubocurarin wirken bei den uns verwendeten Konzentrationen in gleicher Weise blockierend auf die efferenten Synapsen, d.h. der molekulare Rezeptor verhält sich insofern ähnlich wie an der Muskelendplatte.
4. Succinylcholin hatte keine auch nur kurzfristig währende, den COCB-Effekt mimende Wirkung, sondern blockte wie Gallamin und Curare. Im Rahmen unserer Beobachtungsmöglichkeiten ließ sich, mit Ausnahme der höheren Dosis die benötigt wurde, kein Unterschied in der Wirkungsweise zu den anderen Relaxantien feststellen.
5. Die spontane Erholung des COCB-Effektes nach

Succinylcholin, auch ohne Spülung der Scala tympani ist als Ausdruck der relativ kurzen Wirkungszeit im Vergleich zu anderen Relaxantien zu erklären.

7.5. Befunde über den Einfluß von Ganglienblockern auf den COCB-Effekt

Die Gruppe der Ganglienblockern ist mit den Muskelrelaxantien sowohl pharmakologisch, als auch chemisch verwandt. Beiden Gruppen ist gemeinsam, daß ihre Substanzen an Rezeptoren angreifen, die auf Nikotin reagieren.

Die Verwandschaft geht soweit, daß auch Muskelrelaxantien in hoher Dosierung ganglioplegisch wirken. Die Erklärung für die unterschiedliche pharmakologische Wirkung liegt im Grad der Affinität zu bestimmten Rezeptoren, wie sie sich aus der chemischen Struktur der Moleküle ergibt. Bei den Ganglienblockern mit zwei aktiven Zentren wird das an einem kürzeren Abstand dieser Zentren von nur 5 - 6 Atomen deutlich, während die Molekülbrücken bei den Muskelrelaxantien ungefähr 10 Atome, d.h. ca. $14 \text{ \AA}$ lang sind (s. Strukturformeln im Anhang). Aus der Gruppe der Ganglienblocker wurde für unsere Versuche Hexamethonium und Mecamylamin eingesetzt.

Die Operation und die Untersuchungsmethoden hielten sich an das übliche Schema. Hexamethonium wurde an drei Katzen getestet, Mecamylamin an einem Tiere versucht. Dabei zeigte sich, daß Hexamethonium bei einer Konzentration von 10^{-5} M/l künstlicher Perilymphe eine blockierende Wirkung auf die efferenten Synapsen entfaltete, Mecamylamin erst bei 10^{-3} M/l . Außer dem COCB-Effekt wurden andere Parameter wie z.B. die Form des Mikrophon-

und Summenaktionspotentials nicht verändert. Die Wirkung beider Drogen war reversibel. Für beide Substanzen läßt sich mit Vorsicht, im Hinblick auf die geringe Anzahl der Versuche, besonders beim Mecamylamin, folgendes Ergebnis formulieren.

1. Sowohl Hexamethonium als auch Mecamylamin blockieren den COCB-Effekt.
2. Ihre Wirkung ist reversibel.
3. Die afferente Signalübertragung wird nicht beeinflusst.
4. Eine Klassifizierung des Rezeptors in Untergruppen der cholinergen Rezeptoren war nicht möglich.

7.6. B e f u n d e ü b e r d e n E i n f l u ß v o n A t r o p i n u n d M u s c a r o n a u f d e n C O C B - E f f e k t

Im cholinergen System gibt es neben nikotinempfindlichen Rezeptoren die muscarinempfindlichen Rezeptoren. Muscarin, die Substanz die dieser Klasse von Rezeptoren den Namen gab, wirkt an den an den postganglionären parasymphatischen Synapsen eine wie Acetylcholin, allerdings mit einer länger anhaltenden Erregung. Vom Atropin ist dagegen bekannt, daß es eben an diesen Synapsen eine kompetetiv hemmende Wirkung entfaltet. Da die Rezeptoren der akustischen Efferenzen im Cortischen Organ sowohl durch Muskelrelaxantien als auch durch Ganglienblocker beeinflusst werden, lag die Frage nahe, ob auch Atropin wirksam ist.

Muscaron, ein Derivat des Muscarins, eignet sich für eine Klassifizierung des Rezeptors weniger. Es hat eine stärkere cholinerge Wirkung als Mus-

carin und hat in nur wenig höherer Dosierung als an den peripher-cholinergen Synapsen, wo es im Gegensatz zu Atropin depolarisierend wirkt, auch Effekte auf vegetative Ganglien und muskuläre Endplatten (Waser 1958). Muscaron entspricht insofern pharmakologisch eher dem Acetylcholin, vor allem in seiner Eigenschaft als depolarisierende Substanz. Mehr aus formalen Gründen sollen unsere Ergebnisse mit Muscaron jedoch an dieser Stelle im Zusammenhang mit unseren Befunden über Atropin behandelt werden, einer Substanz, die spezifisch die muscarinempfindlichen Synapsen blockiert.

Unsere Versuche mit Atropin wurden an drei Katzen durchgeführt, wobei nur z.T. beide Ohren präpariert wurden. Operation und Untersuchungstechnik hielten sich an das übliche Verfahren. Über Instillationskanülen wurde Atropin in aufsteigenden Konzentrationen in den Perilymphraum instilliert. An drei untersuchten Ohren ließ sich eine Wirkung von Atropin auf den COCB-Effekt feststellen. Die geringste Menge, mit der der COCB-Effekt aufgehoben werden konnte, betrug 0,2 ml einer 5×10^{-5} molaren Atropinlösung in künstlicher Perilymphe, von der der größte Teil sofort wieder die Scala tympani durch das runde Fenster verließ. Die Wirkung von Atropin bildete sich in ca. 4 bis 7 Min. heraus, die maximale Wirkung war spätestens nach 30 Min. erreicht. Eine geringe Reduktion des Summenaktionspotentials auf elek. Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels hin, blieb manchmal auch bei diesen Versuchen mit ca. 2 bis 3 dB erhalten. Durch Spülen mit atropinfreier künstlicher Perilymphe ließ sich eine Rückkehr der efferenten Inhibition erreichen. Die Wirkung von Muscaron auf die efferenten Synapsen wurde von uns in 2 Experimenten untersucht. Eine Blockierung des COCB-Effektes stellte sich erst bei einer Muscaronkonzentration von 10^{-3} M/l

Perilymphe ein. Ein Erfolg schon mit 10^{-4} molarer Lösung war unsicher. In keinem Fall konnte ein der elek. Reizung des COCB entsprechender Effekt auf Mikrophon- und Summenaktionspotentiale beobachtet werden.

Eine Beeinträchtigung dieser Potentiale durch Muscaron ohne elek. Reizung des COCB war nicht festzustellen.

Nach Spülung der Scala tympani mit muscaronfreier Perilymphe kehrte der COCB-Effekt wieder. Als Resultat der Experimente mit Atropin und Muscaron läßt sich zusammenfassen:

1. Das muscarinempfindliche Synapsen blockierende Atropin hebt in Konzentrationen von 5×10^{-5} M/l und höher den COCB-Effekt auf.
2. Das weniger selektiv angreifende Muscaron blockiert den COCB-Effekt in 10^{-5} molarer Lösung.
3. Eine, die efferente Aktivität mimende Wirkung des Muscarons war wider Erwarten nicht festzustellen.
4. Beide Substanzen lassen die afferente Informationsübertragung unbeeinflußt.
5. Die Wirkung beider Substanzen auf den COCB-Effekt ist reversibel.

7.7. Befunde über die Wirkungen von Hemicholin Nr. 3 (HC-3)

Hemicholin soll in cholinergen Nervenendigungen die Synthese eines funktionstüchtigen Transmittermoleküls verhindern. Bei höheren Konzentrationen von Hemicholin soll es auch zu einer direkten postsynaptischen Blockierung kommen, die einer curare-ähnlichen Wirkung entspricht. (Elmquist und Quastel 1965, Mac Intosh 1961, Martin und Orkand 1961, Schueler 1960, Thies und Brooks 1961).

Unsere Experimente mit HC-3 wurden an insgesamt sieben Katzen durchgeführt. Dabei wurde eine geringfügige Änderung der Untersuchungstechnik notwendig. Da Hemicholin die Transmittersynthese stört, wird seine Wirkung erst sichtbar, wenn zuvor der noch funktionstüchtige Transmitter verbraucht wurde. Nach üblicher Operation mit Präparation beider Ohren wurde auf der einen Seite HC-3-Lösung, zur Kontrolle auf der anderen Seite reine Perilymphe instilliert. Bei einer Konzentration von 10^{-5} M/l trat eine Blockierung der gekreuzten Olivo-cochleären Bündel jedoch erst dann auf, wenn die Efferenzen repetitiv gereizt wurden. Dies wurde durch Reizung im Abstand von 0,9 sec. bewirkt mit 80 Einzelimpulsen von 0,1 msec. Dauer und 2V. Nach ungefähr 6 Min. kam es auf der Seite, deren Cochlea mit HC-3-haltiger Perilymphe gespült worden war, zum Verschwinden des COCB-Effektes. Allerdings wurde der Effekt nach repetitiver Reizung auch auf dem Kontrollohr schwächer, erholte sich dort aber innerhalb von 2 Min. nach Ende der elektr. Reizung vollständig, während sich auf dem Testohr höchstens ein Effekt entsprechend 1 bis 2 dB_{SPL} wieder einstellte. Bei 10^{-4} und höher molaren Konzentrationen des Hemicholins kam es auch ohne repetitive Reizung zu einer Blockierung der efferenten Inhibition. Dieser Effekt war nach den oben angeführten Untersuchungen von Martin und Orkand (1961) und Thies und Brooks (1961) an der Muskelendplatte zu erwarten. Er kommt wahrscheinlich durch eine direkte postsynaptische Wirkung des Hemicholins zustande.

Nach Guth und Amaro (1969) konnte nach intraarterieller Gabe von Cholin die Wirkung von HC-3 an der Cochlea inaktiviert werden. Brown, Daigneault und Pruett (1969) berichteten dagegen von einem Synergismus von Cholin i.a. und HC-3 im

Sinne einer verstärkten Blockierung der Efferenzen.

Bei zwei unserer Experimente wurde nach HC-3-Instillation und bei sicher blockierten Efferenzen Cholin in Konzentrationen von 1×10^{-4} M/l bis zu 5×10^{-3} M/l der HC-3-haltigen Perilymphe beige-mischt. Ein Antagonismus zwischen HC-3 und Cholin, wie ihn Guth und Amaro (1969) berichten, konnte von uns nicht festgestellt werden. Stärkere Cholin-konzentrationen als 5×10^{-3} M/l wurden nicht benutzt, da allein bei reiner cholinhaltiger Perilymphe in dieser Konzentration im Kontrollversuch eine, wenn auch nicht sichere Blockierung der Efferenzen beobachtet wurde. Sowohl durch Hemicholin als auch Cholin kam es zu keiner bleibenden Schädigung des Innenohres. Nach Spülen mit reiner Perilymphe kehrte der COCB-Effekt regelmäßig wieder und auch nicht langsamer als mit Cholin.

Unsere Beobachtungen lassen sich wie folgt zusammenfassen.

1. Hemicholin blockiert bei Verwendung unserer Instillationsmethode in Konzentrationen von 10^{-5} molarer Lösung den efferenten Einfluß auf das Cortische Organ. Allerdings nur wenn nach der Instillation eine repetitive Reizung vorgenommen wird, bei der man eine maximale Entleerung von funktionstüchtigen Transmitter annehmen darf.
2. In höherer Dosierung mit 10^{-4} molarer Instillationslösung führte HC-3 auch ohne elek. Reizung des COCB zu einem efferenten Block, was mit einer direkten postsynaptisch curareähnlichen Wirkung erklärt werden kann.
3. Wenn das gekreuzte Olivo-cochleäre Bündel nicht elek. gereizt wurde, hatte Hemicholin in 10^{-5} molarer Lösung keinen Einfluß auf die Summenaktionspotentiale und Mikrophonpotentiale.

4. Alle erzeugten Effekte waren durch Spülungen mit reiner künstlicher Perilymphe reversibel.
5. Für Cholin in Konzentrationen bis zu 5×10^{-3} M/l konnte kein Antagonismus zur HC-3-Wirkung beobachtet werden.

7.8. B e f u n d e ü b e r d i e W i r k u n g v o n
S t r y c h n i n a u f d e n C O C B - E f f e k t

Die blockierende Wirkung von Strychnin auf den COCB-Effekt ist seit den Versuchen von Desmedt und Monaco (1960, 1961 a und b) gesichert und immer wieder bestätigt worden (vergl. Kap. 6.2.). Mit Strychnin ließ sich also auch die Leistungsfähigkeit unserer Methodik überprüfen. Unsere Ergebnisse beziehen sich auf eine Versuchsreihe mit 10 Tieren, bei denen Strychnin in aufsteigenden Konzentrationen instilliert wurde. Die Operationstechnik und die Methodik der Untersuchung waren wie vorne beschrieben. Die Instillation erfolgte wie üblich über eine Instillationskanüle durch das runde Fenster in den eröffneten Perilymphraum. In 8 Experimenten ließ sich eine Inhibition durch elek. Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels aufheben. An zwei Ohren war der Effekt jedenfalls nicht sicher. Die geringste Konzentration, mit der Strychnin die efferente Inhibition blockierte, betrug 10^{-5} M/l. Die spezifisch pharmakologische Wirkung trat in einem Zeitraum von ca. 5 bis 15 Min. ein, bzw. hatte sich in dieser Zeit voll ausgebildet. Der übriggbleibende COCB-Effekt betrug dann nur ca. 0 bis 3 dB.

Manchmal wurde eine spontane partielle Erholung der efferenten Inhibition am Summenaktionspotential beobachtet. In seltenen Fällen kehrte der COCB-Effekt auch nach Spülung mit reiner künstlicher Perilymphe nicht wieder.

In einem Experiment wurde versucht durch intravenöse Injektion von 80 µg/kg Strychnin die efferenten Synapsen zu blockieren. Schon ca. 2 Min. nach Injektion ließ sich der COCB-Effekt nicht mehr nachweisen.

Die Ergebnisse lassen sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

1. Eine blockierende Wirkung von Strychnin in Konzentrationen von 10^{-5} M/l und höher auf den COCB-Effekt konnte bestätigt werden.
2. Wie sich aus der Beobachtung von Mikrophon- und Summenaktionspotential ergab, wurde die afferente Informationsübertragung im Innenohr durch Strychninkonzentrationen von 10^{-5} bis 10^{-3} M/l nicht beeinträchtigt.
3. Der pharmakologische Effekt auf die efferenten Synapsen ist reversibel.
4. Der annähernd gleiche Erfolg bei lokaler und intravenöser Applikation gibt keinen Hinweis auf ein Permeabilitätshindernis im Sinne einer Blutperilymphschranke für Strychnin.

8.

D i s k u s s i o n

Ziel unserer Versuche war

1. Ergebnisse bei der Suche nach dem Neurotransmitter der efferenten Synapsen in der Cochlea zu gewinnen.
2. eine Klassifizierung der subsynaptischen Rezeptoren zu erreichen.

Um Punkt 1, die Frage nach der Transmittersubstanz, entscheiden zu können, sind Kriterien zitiert worden (Kap. 5.2.), wie sie in ähnlicher Weise von

verschiedenen Autoren formuliert wurden (Übersicht: Steiner 1971). Die Erfüllung sämtlicher Forderungen ist der Idealfall, im Praktischen wohl kaum oder nur sehr schwierig zu erreichen. Für unsere Versuche kann eigentlich nur das als letzte aufgeführte Kriterium herangezogen werden; nämlich, daß Substanzen, die an anderen Synapsen die Wirkung des hypothetischen Transmitters beeinflussen, auch in gleicher Weise die Wirkung des Überträgerstoffes in der getesteten Synapse verändern müssen.

Alle von uns in dieser Arbeit untersuchten Substanzen konnten erfolgreich die efferenten Synapsen des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels blockieren. Fast alle verwendeten Drogen lassen sich in einer Gruppe zusammenfassen, deren pharmakologische Eigenschaften verhältnismäßig eng mit denen des Acetylcholin verknüpft sind und die z.T. speziell entwickelt wurden, um cholinerge Synapsen zu beeinflussen. Aus diesem Rahmen fällt nur Strychnin heraus. Von Strychnin ist bekannt, daß es die Synapsen der Renshawzellen im Rückenmark blockiert. Diese Tatsache hatte Desmedt und Monaco (1960 und 1961 a und b) veranlaßt, den gleichen Transmitter wie an den Renshawzellen für die efferenten Synapsen im Cortischen Organ zu postulieren. Nach Curtis (1969) soll Strychnin im Rückenmark die Funktion der Renshawzellen postsynaptisch blockieren. Für die Renshawzellen ist als Transmitter die Aminosäure Glycin identifiziert worden (Curtis, Hösli und Johnstone 1967, Werman, Davidoff und Aprison 1966). Daß Strychnin auch an cholinergen Synapsen ein starker Inhibitor ist, zeigen Untersuchungen von Phillis und York (1967 und 1968), sodaß bei solchen strychninempfindlichen, cholinergen Synapsen die Möglichkeit eines Zusammenwirkens von zwei Transmittersubstanzen erwogen wurde (Mc Kinstry und Koelle 1967).

In der Tat spricht die vergleichbare Wirkung sowohl von Strychnin als auch von Tetanustoxin (Klinké et al. 1973) an den efferenten Synapsen des Cortischen Organs für den gleichen Neurotransmitter bei den Renshawzellen und bei den Synapsen der Olivo-cochleären Bündel. Die Wirkung von Tetanustoxin soll dabei an den Renshawzellen eine Störung der Transmitterfreisetzung darstellen (Curtis und de Groat 1968), was als eine präsynaptische Hemmung aufzufassen wäre. Aber auch von Tetanustoxin ist bekannt, daß es z. B. an der Iris die Transmitterausschüttung von cholinergen Nervenendigungen beeinflusst (Ambache, Morgan, Payling und Wright 1948). Auf der einen Seite weist also die Wirkung von Strychnin und Tetanustoxin an den efferenten Synapsen des Cortischen Organs auf eine mögliche Funktion von Glycin als Überträgerstoff hin, auf der anderen Seite kann jedoch die Fülle von Hinweisen auf Acetylcholin als Transmitter dadurch nicht entkräftet werden. Die blockierende Wirkung auf den COCB-Effekt durch Strychnin ist allgemein akzeptiert. Auch nach unseren Resultaten kann daran kein Zweifel sein.

Ein wesentliches Indiz für die Bedeutung von Acetylcholin bei der chemischen Informationsübertragung in den Synapsen der Olivo-cochleären Bündel lieferten die histochemischen Nachweise von Acetylcholinesterase an den efferenten Nervenendigungen (Übersicht bei Iurato, Luciano, Pannese, Reale 1971). Dieser Nachweis erfüllt sich bereits, zumindest teilweise, eines in Kap. 5.2. genannten Kriterien, indem ein besonderes Enzymsystem am synaptischen Spalt gefordert wird, das für die Inaktivierung des Transmitters sorgt. Leider ist das Vorkommen von Acetylcholinesterase nicht speziell auf cholinerge Synapsen beschränkt, worauf Levis, Shute

und Silver (1967) hinweisen.

Ein anderes Enzym, das für die Synthese von Acetylcholin in den Olivo-cochleären Bündel notwendig ist, wurde kürzlich von Jasser und Guth (1973) beschrieben. Mit diesem Nachweis von Cholin-Acetyltransferase wird ein weiteres für Acetylcholin sprechendes Kriterium erfüllt. In diesem Rahmen sind auch die Untersuchungsergebnisse mit Hemicholin (HC-3) interessant. Für die Synthese von Acetylcholin durch die Cholin-Acetyltransferase werden als Vorstufen aktivierte Essigsäure und Cholin benötigt. Hemicholin stellt dabei eine falsche Vorstufe dar, die eine präsynaptische Bildung von Acetylcholin verhindert. Es konnte gezeigt werden, daß HC-3 in der Lage war, den COCB-Effekt zu blockieren.

Ältere Befunde mit Drogen, die in verschiedener Weise in den Wirkungsmechanismus von Acetylcholin eingreifen, wurden in Kap. 6.1.5. ausführlich beschrieben und sollen hier deshalb nicht wiederholt werden. Die Autoren kamen darin zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen und Schlußfolgerungen, was z.T. wohl daran lag, daß bei der Wahl der Untersuchungsmethode, die Existenz einer Blutperilymphschranke nicht erwogen wurde. Dieser Einwand muß generell auf die Versuche mit i.a. oder i.v. Injektionen von Testsubstanzen bezogen werden. Eine Reihe von negativen Befunden läßt sich so leicht erklären. Die von uns gewählte Methode der lokalen Applikation der Testsubstanzen in die Scala tympani hatte den Vorteil, keinen solchen Schrankenmechanismus überwinden zu müssen. Die Tatsache, daß sämtliche von uns getesteten Pharmaka, die in verschiedener Weise mit der synaptischen Wirkung von Acetylcholin interferieren, eine Blockierung des COCB-Effektes erzeugten, ist einerseits ein deutlicher Hinweis, auf die Rolle von Acetylcholin im synaptischen Prozess, andererseits wird dadurch eine nähere Interpretation

erheblich erschwert. In dem Maße, mit dem jede neu-eingeführte Substanz die Indizien für Acetylcholin als verantwortlichen Transmitter verstärkte, wurde eine Klassifizierung des Rezeptors unmöglich. Es ließ sich weder eine besondere Verwandtschaft zu muscarinempfindlichen noch zu ganglionären Rezeptoren oder zur Muskelendplatte herstellen. Sowohl postsynaptisch membranstabilisierende Relaxantien, wie Gallamin und Curare, als auch das depolarisierend wirkende Succinylcholin, sowohl das parasymphatisch postganglionär hemmende Atropin, wie sein erregend wirkender Antagonist Muscaron, führten zur Blockierung des COCB-Effektes. Das gleiche Ergebnis hatten Versuche mit den Ganglienblockern Hexamethonium und Mecamylamin und dem präsynaptisch angreifenden Hemicholin.

Zwei Erklärungen liegen nahe: daß

1. der postsynaptische Rezeptor relativ undifferenziert auf ein breites Spektrum cholinerges Pharmaka anspricht, oder daß
2. die Untersuchungstechnik eine genaue Klassifizierung ausschließt.

Die letzte Überlegung ist sicherlich aus folgenden Gründen nicht unberechtigt. Auch an anderen hochspezialisierten Synapsen des cholinergen Systems reagieren fast alle aufgeführten Pharmaka in hohen Konzentrationen mit jedem Rezeptor. Eine Differenzierung wäre demnach nur mit dem genauen Wissen über die minimal wirksamen Konzentrationen an den efferenten Synapsen möglich. Zwar wurden für unsere Versuche in den vorstehenden Kapiteln die Konzentrationen der Testsubstanzen in der Instillationslösung angegeben, doch dürften diese Werte hinsichtlich der effektiven Konzentration an den efferenten Synapsen durch folgende Faktoren erheblich verändert werden.

1. Durch eine Mischung der Testlösung mit der vorhandenen Perilymphe.

2. Durch Nachproduktion von neuer körpereigener Perilymphe.
3. Durch eine unterschiedliche Lage der Instillationskanülen, bei der eventuell verschieden große Flächen der Basilarmembran gespült wurden und
4. Durch von einander abweichende Diffusionsgeschwindigkeiten.

Diese Verhältnisse finden z.T. ihre Entsprechung in der relativ großen Schwankungsbreite, der von uns als minimal wirksam beobachteten Konzentrationen einer Substanz. Auffällig ist die recht hohe Minimumkonzentration von 6×10^{-4} M/l bei Succinylcholin. Zwar ist auch an dem Rezeptor der Muskelendplatte eine größere Konzentration als z.B. von Gallamin nötig, um eine Relaxierung zu erreichen, möglicherweise handelt es sich aber bei dem von uns beobachteten Block der efferenten Inhibition durch Succinylcholin um einen durch Überdosis erzeugten Effekt der „Substrathemmung“, wenn man diesen Begriff aus der Enzymkinetik verwenden darf. Dann könnte es sein, daß dieser Phase des Blocks eine Phase vorherginge, in der Succinylcholin wie Acetylcholin wirkt. Weder vor dem Eintritt der Blockierung der efferenten Impulse, noch im Anschluß an eine meist spontan und ohne Spülung erfolgende Remission konnte eine Simulation efferenter Impulse beobachtet werden, wie sie eigentlich von uns im Hinblick auf die Verhältnisse an der Muskelendplatte erwartet wurden. Es ist kaum denkbar, daß diese mimende Phase dabei nur so kurz war, daß sie bei einer akustischen Reizfrequenz von 6 bis 12 Klicks/min nicht festgestellt werden konnte. Wahrscheinlicher erscheint uns, daß der subsynaptische Rezeptor mit Succinylcholin nicht in derselben Weise reagiert, wie mit dem efferenten Transmitter. Das heißt, durch Succinylcholin würde das Schlüssel-Schloß Prinzip nur so

weit erfüllt, als es durch Anlagerung am Rezeptor zur kompetitiven Verdrängung von Acetylcholin kommt. Die Unterschiede in der molekularen Struktur würden jedoch den nächsten Schritt, die Änderung des Membranpotentials, wie sie an der Muskelendplatte stattfindet, verhindern. Der Wirkungsmechanismus von Succinylcholin würde sich somit an den efferenten Synapsen in dieser Weise von dem anderen Blocker nicht unterscheiden. Das gleiche Prinzip könnte auch für Muscaron gelten.

Betrachtet man alle Ergebnisse mit den Substanzen, die auch sonst an cholinergen Synapsen in spezifischer Weise mit Acetylcholin interferieren, wird die Hypothese gestützt, daß Acetylcholin entscheidend für die chemische Kopplung in den efferenten Synapsen der gekreuzten Olivo-cochleären Bündel verantwortlich ist. Befunde über die Wirksamkeit von Strychnin und Tetanustoxin widersprechen dieser Aussage, wie schon oben dargelegt wurde, nicht. Es werden für Acetylcholin also drei wichtige Kriterien erfüllt, wenn man die Befunde über Acetylcholin-esteraseaktivität und die Hinweise von Jasser und Guth (1973) auf das Vorhandensein von Cholin-Acetyltransferase berücksichtigt.

Unsere Ergebnisse befinden sich im Einklang mit den Befunden von Fex (1968), der ebenfalls eine lokale Applikation der Testlösungen vorgenommen hatte. Der Autor zog jedoch seine Schlußfolgerungen aus seinen Versuchen mit d.-Tubocurarinchlorid an Hand anderer Meßparameter. Er beobachtete, daß die Latenz und die Anstiegssteilheit, der nach elek. Reizung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels auftretenden Gleichspannungspotentiale, verlängert wurden und ihre Amplitude abnahm.

Konishi (1972) berichtet über Befunde an Meer-schweinchen, nach denen die Durchspülung der Scala

tympani mit 10^{-4} molarer Atropinlösung in Ringer den COCB-Effekt auf Mikrophon- und Summenaktionspotentiale zu blockieren vermochte. D.-Tubocurarin hatte in 10^{-5} molarer Lösung eine gleiche Wirkung auf den COCB-Effekt.

In den Untersuchungen, in denen Acetylcholin i.a. appliziert wurde, konnte im Verhalten der Summenaktionspotentiale eine efferenter Aktivität entsprechende Wirkung registriert werden (Amaro, Guth und Wanderlinder 1966, Brown, Daigneault und Pruett 1969, Daigneault und Brown 1966, 1969 a, Daigneault, Brown und Pruett 1968), doch machten die Autoren über das Verhalten der Mikrophonpotentiale keine oder unterschiedliche Angaben. Hinweise auf die Existenz einer Blutperilymphschranke, jedenfalls für bestimmte Substanzen führen uns zu einer skeptischen Beurteilung von Aussagen auf Grund intraarteriell oder intravenös durchgeführter pharmakologischer Untersuchungen. Doch auch bei lokaler Applikation soll nach Bobbin und Konishi (1971) Acetylcholin den COCB-Effekt simulieren. Damit wäre für Acetylcholin ein viertes Kriterium erfüllt. Dementgegen stehen allerdings Befunde von Sohmer und Feinmesser (1963).

Auch die mikroelektrophoretischen Untersuchungen mit Acetylcholin führten zu unterschiedlichen Ergebnissen (Gisselson 1960, Katsuki, Tanaka und Miyoshi 1965, Tanaka und Katsuki 1966). Dazu muß allerdings bemerkt werden, daß von dieser Methode, solange Wirkungen auf Summenpotentiale untersucht werden, wenig erwartet werden kann.

Seit den Arbeiten von Desmedt und Monaco (1960, 1961 a und b) ist bekannt, daß Strychnin i.v. den COCB-Effekt zu blockieren vermag. Auch in einem unserer Experimente wurde Strychnin i.v. injiziert und führte bereits nach ca. 2 Min. zu einer Blockierung der efferenten Synapsen. Die Hypothese

einer Blutperilymphschranke liegt jedoch nahe, nachdem Substanzen wie Gallamin und Atropin als quartäre Ammoniumbasen in der Lage waren, bei lokaler Applikation den COCB-Effekt zu blockieren, während Gallamin i.v. in der angegebenen Dosierung nach eigener Beobachtung keine Wirkung auf die efferenten Synapsen hatte. Erst in späteren Versuchen (Galley et al. 1973) bei denen Gallamin i.v. in sehr hoher Dosierung (mehr als 70 mg/kg) injiziert wurde, gelang es eine Blockierung des COCB-Effektes zu erreichen. Die Annahme einer Blutperilymphschranke wird durch Untersuchungen von Sohmer und Feinmesser gestützt (1963), nach denen sowohl Curare und Gallamin in relaxierenden Dosen, als auch Atropin nach intravenöser Injektion keine Wirkung auf den COCB-Effekt zeigten.

Ähnliche Ergebnisse berichten Brown, Daigneault und Pruett (1969) nach intraarterieller Injektion von Atropin, Curare und Gallamin. Wie weit ein Schrankenmechanismus auch für andere Substanzen gilt, wäre weiter zu prüfen.

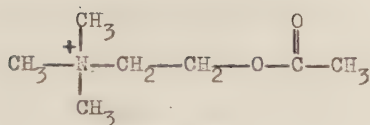
Z U S A M M E N F A S S U N G

Schon seit längerer Zeit ist bekannt, daß sich entlang der Fasern der Olivo-cochleären Bündel Acetylcholinesterase histochemisch nachweisen läßt.

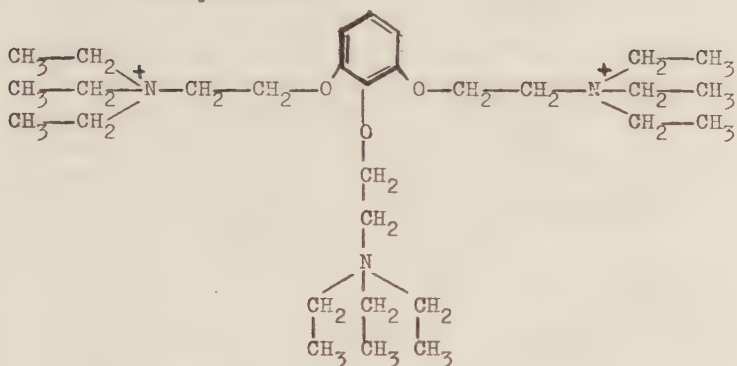
Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, daß bei lokaler Applikation in den Perilymphraum Gallamin, d. Tubocurarin, Succinylcholin, Hexamethonium, Mecamylamin, Atropin, Muscaron und Hemicholin die inhibitorische Wirkung des gekreuzten Olivo-cochleären Bündels am Cortischen Organ blockieren. Dies sind starke Hinweise auf eine Rolle von Acetylcholin beim Transmitterprozeß in den efferenten Synapsen des Cortischen Organs. Die Tatsache, daß auch Strychnin und Tetanustoxin die efferenten Synapsen blockieren, schließt Acetylcholin als Transmitter nicht aus.

Der subsynaptische Rezeptor scheint im Vergleich zu anderen cholinergen Rezeptoren relativ undifferenziert auf ein breites Spektrum mit Acetylcholin interferierender Substanzen zu reagieren.

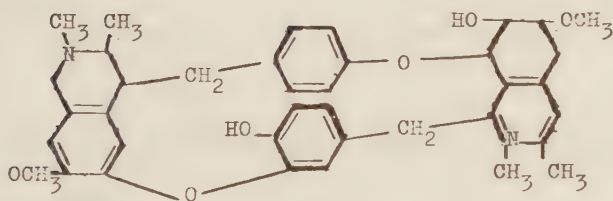
Die lokale Applikation der Testlösungen in die Cochlea ist geboten um mit Sicherheit eine Blutperilymphschranke zu umgehen, deren Existenz nach unseren Befunden zumindest für Gallamin, Curare und Atropin als wahrscheinlich angesehen werden muß.



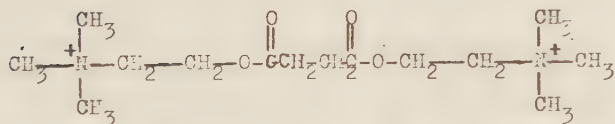
Acetylcholin



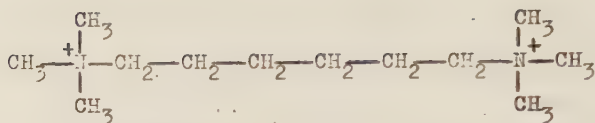
Gallamin



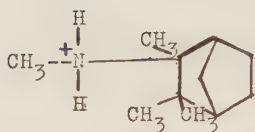
d-Tubocurarin



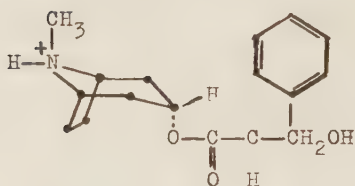
Succinylcholin



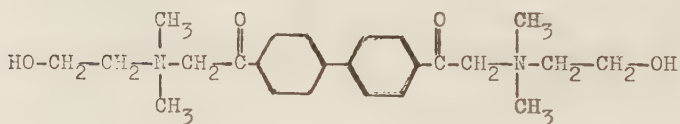
Hexamethonium



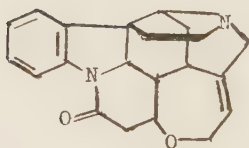
Mecamylamin



Atropin



Hemicholinium



Strychnin

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- AMARO, J., P. S. GUTH, and L. WANDERLINDER. Inhibition of auditory nerve action potentials by acetylcholine and physostigmine. Brit. J. Pharmacol. Chemotherap. 28:207-211, 1966.
- AMBACHE, N., R. S. MORGAN, and G. PAYLING WRIGHT. The action of tetanus toxin on the rabbit's iris. J. Physiol., London 107:45-53, 1948.
- ARMETT, Chr. J., and J. M. RITCHIE. The action of acetylcholine and some related substances on conduction in mammalian nonmyelinated nerve fibers. J. Physiol., London 155:372-384, 1961.
- Von BEKESY, G.: Experiments in hearing Mc Graw-Hill Book Comp., New York 1960.
- BOBBIN, R. P., G. GONZALES, and P. S. GUTH. Effects of aminooxyacetic acid on cochlear potentials and the Preyer reflex. Nature 223:70-71, 1969.
- BOBBIN, R., and P. S. GUTH. Effects of aminooxyacetic acid (AOAA) and related agents on hair cell (CM) and VIII nerve action potentials (N_1). Federation Proc. 28:2885, 1969.
- BOBBIN, R. P., and P. S. GUTH. Evidence that gamma-aminobutyric acid is not the inhibitory transmitter at the crossed olivocochlear nerve-hair cell junction. Neuropharmacology 9:567-574, 1970.
- BOBBIN, R. P., and T. KONISHI. Acetylcholine mimics crossed olivocochlear bundle stimulation. Nature 231:222-223, 1971.
- BOSHER, S. K. Ciba Foundation Symposium 1968, S.301 In: Hearing mechanisms in vertebrates. Hrsg. A.V.S. de Reuck and Julie Knight. J. and A. Churchill LTD, London 1968.
- BRADLEY, K., D. M. EASTON, and J. C. ECCLES. An investigation of primary or direct inhibition. J. Physiol. London 122:474-488, 1953.
- BROWN, J. C., and B. HOWLETT. The olivocochlear tract in the rat and its bearing on the homologies

- of some constituent cell groups of the mammalian superior olivary complex: a thiocholine study. *Acta Anat.* 83:505-526, 1972.
- BROWN, R. D. Effects of prostaglandin E₁ on contralateral olivo-cochlear bundle stimulation in cats. *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 198:372-376, 1972.
- BROWN, R. D., E. A. DAIGNEAULT, and J. R. PRUETT. The effects of selected cholinergic drugs and strychnine on cochlear responses and olivo-cochlear inhibition. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 165:300-309, 1969.
- CAPFS, M. J., and H. W. ADES. Auditory frequency discrimination after transection of the olivo-cochlear bundle in squirrel monkeys. *Exptl. Neurol.* 21:147-158, 1968.
- CHAMBERLAIN, S. C., E. C. MOXON, and M. L. WIEDERHOLD. Efferent inhibition of electrically stimulated response in cat auditory-nerve fibers. *MIT Quart. Progr. Rept.* 90:266-270, 1968.
- CHURCHILL, J. A., H. F. SCHUHKNECHT, and R. DORAN. Acetylcholinesterase activity in the cochlear. *Laryngoscope* 66:1-15, 1956.
- CURTIS, D. R. Pharmacological investigations upon inhibition of spinal motoneurons. *J. Physiol. London* 145:175-192, 1959.
- CURTIS, D. R. The identification of Mammalian inhibitory transmitters. In: *Nervous inhibition*. Hrsg.: E. Florey Pergamon Press, Oxford 1961, S. 342-349.
- CURTIS, D. R. The pharmacology of spinal postsynaptic inhibition. In: *Mechanisms of synaptic transmission*. Hrsg.: K. Akert and P. G. Waser. *Progress in Brain Research*, Elsevier Amsterdam 31:171-189, 1969.
- CURTIS, D. R., and R. M. ECCLES. The excitation of Renshaw cells by pharmacological agents applied electrophoretically. *J. Physiol. London* 141:435-445, 1958.
- CURTIS, D. R., and W. C. de GROAT. Tetanustoxin and spinal inhibition. *Brain Res.* 10:208-212, 1968.

- CURTIS, D. R., L. HÜSLI, and G. A. R. JOHNSTON. Inhibition of spinal neurons by glycine. *Nature* 215: 1502-1503, 1967.
- DAIGNEAULT, E. A., and R. D. BROWN. Acetylcholine suppression of the N_1 component of round window recorded cochlear potentials. *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 162:20-29, 1966.
- DAIGNEAULT, E. A., and R. D. BROWN. Development of sensitivity to acetylcholine by the decentralized cochlea. *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 177:238-244, 1969.
- DAIGNEAULT, E. A., and R. D. BROWN. Comparison of acetylcholine with glycine and prostaglandine E_1 on cochlear N_1 . *Federation Proc.* 28:2884, 1969.
- DAIGNEAULT, E. A., R. D. BROWN, and J. PRUETT. Cochlear round window recorded responses to acetylcholine and click stimulation following decentralization. *Acta Oto-Laryngol.* 66:10-16, 1968.
- DALE, H. H. Pharmacology and nerve endings. *Proc. Roy. Soc. Med.* 28:319-332, 1935.
- DAVIS, H. Mechanisms of the inner ear. *Ann. Otol. Rhin. Laryng.* 77:644-656, 1968.
- DEL BO, M., and A. CONTI. Distribuzione dell'acetilcolinesterasi nella lamina spirale della coclea di cavia. Ricerca condotta sull'animale adulto, sul feto a termine e sul neonato. *Arch. Ital. Otol.* 72:44-55, 1961.
- DESMEDT, J. E. Efferent olivo-cochlear gating of acoustic input and the resultant changes in auditory cortex potentials. *J. Physiol., London* 165: 33-34, 1962.
- DESMEDT, J. E. Auditory-evoked potentials from cochlea to cortex as influenced by activation of the efferent olivo-cochlear bundle. *J. Acoust. Soc. Am.* 34:1478-1496, 1962.
- DESMEDT, J. E., and P. J. DELWAIDE. Neural inhibition in a bird: effect of strychnine and picrotoxin. *Nature* 200:583-585, 1963.

- DESMEDT, J. E., and V. LA GRUTTA. Function of the uncrossed efferent olivocochlear fibers in the cat. *Nature* 200:472-474, 1963.
- DESMEDT, J. E., and P. MONACO. Suppression par la strychnine de l'effet inhibiteur centrifuge exercé par le faisceau olivo-cochléaire. *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 129:244-248, 1960.
- DESMEDT, J. E., and P. MONACO. The pharmacology of a centrifugal inhibitory pathway in the cat's acoustic system. *Proc. Intern. Pharmacol. Meeting, Ist, Stockholm* 8:183-188, 1961.
- DESMEDT, J. E., and P. MONACO. Mode of action of the efferent olivocochlear bundle on the inner ear. *Nature* 192:1263-1265, 1961.
- DEWSON, J. H., III. Efferent olivocochlear bundle: some relationships to stimulus discrimination in noise. *J. Neurophysiol.* 31:122-130, 1968.
- ECCLES, J. C. The physiology of nerve cells. Johns Hopkins Press, Baltimore, 1957.
- ECCLES, J. C. The physiology of synapses. Springer-Verl., Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1964.
- ECCLES, J. C., R. M. ECCLES, and P. FATT. Pharmacological investigation on a central synapse operated by acetylcholine. *J. Physiol. London* 131:154-169, 1956.
- ECCLES, J. C., P. FATT, and K. KOKETSU. Cholinergic and inhibitory synapses in pathway from motoaxon collaterals to motoneurons. *J. Physiol. London*, 216:524-562, 1954.
- ELMQUIST, D., and D. S. FELDMAN. Calcium dependence of spontaneous acetylcholine release at mammalian motor nerve terminals. *J. Physiol., London* 181:487-497, 1965.
- ELMQUIST, D., and D. M. J. QUASTEL. Presynaptic action of hemicholinium at the neuromuscular junction. *J. Physiol., London* 177:463-482, 1965.
- ENGSTRÖM, H. On the double innervation of the sensory epithelia of the inner ear. *Acta Oto-Laryngol.* 49:109-118, 1958.

- ENGSTRÖM, H., and F. SJÖSTRAND. The structure and innervation of the cochlear hair cells. *Acta Oto-Laryngol.* 44:490-501, 1954.
- ENGSTRÖM, H., and J. WERSÄLL. Structure and innervation of the inner ear sensory epithelia. *Intern. Rev. Cytol.* 7:535-585, 1958.
- FATT, P. Biophysics of junctional transmission. *Physiol. Rev.* 34:674-710, 1954.
- FATT, P., and B. KATZ. Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings. *J. Physiol., London* 117:109-128, 1952.
- FEX, J. Augmentation of cochlear microphonics by stimulation of efferent fibers to the cochlea. *Acta Oto-Laryngol.* 50:540-541, 1959.
- FEX, J. Auditory activity in centrifugal and centripetal cochlear fibers in cat. *Acta Physiol. Scand.* 55, Suppl. 189:5-68, 1962.
- FEX, J. Crossed cochlear efferents activated by sound through both ears. *Acta Physiol. Scand.* 59, Suppl. 213:41, 1963.
- FEX, J. An auditory feedback system, involving the organ of hearing. *Proc. Australian Assoc. Neurol.* 3:49-53, 1965.
- FEX, J. Auditory activity in uncrossed centrifugal cochlear fibers in cat. A study of a feedback system. II. *Acta Physiol. Scand.* 64:43-57, 1965.
- FEX, J. Calcium action at an inhibitory synapse. *Nature* 213:1233-1234, 1967.
- FEX, J. Efferent inhibition in the cochlea related to hair-cell de activity: study of postsynaptic activity of the crossed olivocochlear fibers in the cat. *J. Acoust. Soc. Am.* 41:666-675, 1967.
- FEX, J. Efferent inhibition in the cochlea by the olivo-cochlear bundle. In: *Giba Found. Symp. Hearing Mechanisms in Vertebrates*, edited by A. V. S. de Reuck and J. Knight. London: Churchill, 1968, p. 169-186.

- FEX, J., K. FUXE, and G. LENNERSTRAND. Absence of monoamines in olivo-cochlear fibers in cat. *Acta Physiol. Scand.* 64:259-262, 1965.
- FISCH, U., and M. G. YASARGIL. Transtemporale, extra-pyrimidale Eingriffe am inneren Gehörgang. *Prac. Oto-Rhino-Laryngol.* 30:377-386, 1968.
- FLACH, M., and P. SEIDEL. Zur Problematik der Adaptation und der zentrifugalen Beeinflussung der Cochlea. *Arch. Klin. Exptl. Ohren-, Nasen- und Kehlkopfheilk.* 189:180-186, 1967.
- GACEK, R. R., Y. NOMURA, and K. BALOGH. Acetylcholinesterase activity in the efferent fibers of the stato-acoustic nerve. *Acta Oto-Laryngol.* 59:541-553, 1965.
- GALAMBOS, R. Suppression of auditory nerve activity by stimulation of efferent fibers to cochlea. *J. Neurophysiol.* 19:424-437, 1956.
- GALAMBOS, R. Studies of the auditory system with implanted electrodes. In: *Neural Mechanisms of the Auditory and Vestibular Systems*, edited by G.L. Rasmussen and W.F. Windle. Springfield, III.: Thomas, 1960, p.137-151.
- GALLEY, N., R. KLINKE, M. PAUSE, and W.-H. STORCH. The effect of Flaxedil (gallamine triethiodide) on the efferent endings in the cochlea. *Arch. Ges. Physiol.* 330:1-4, 1971.
- GALLEY, N., R. KLINKE, W. OERTEL, M. PAUSE, and W. H. STORCH. The effect of intracochlearly administered acetylcholine-blocking agents on the efferent synapses of the cochlea. *Brain Res.* 64:55-63, 1973.
- GELLER, J., and R. GALAMBOS. zit. in Galambos 1960.
- GISSELSON, L. Effect on microphonics of acetylcholine injected into the endolymphatic space. *Acta Oto-Laryngol.* 51:636-638, 1960.
- GRAY, E. G. The synapse. *Science J.* 3:66-72, 1967.
- GRÜSSER, O.-J., R. KLINKE, and K.-D. KOSSOW. Die Signalübertragung und Signalverarbeitung durch Nervenzellen. *Studium Generale* 21:1052-1080, 1968.

- GUTH, P. S., and J. AMARO. A possible cholinergic link in olivo-cochlear inhibition. *Intern. J. Neuropharmacol.* 8:49-53, 1969.
- GUTH, P.S., M. BURTON, and C. H. NORRIS. Release of acetylcholine by the olivocochlear bundles. *J. Acoust. Soc. Am.* 52:143-144, 1972.
- HILDING, D., and J. WERSÄLL. Cholinesterase and its relation to the nerve endings in the inner ear. *Acta Oto-Laryngol.* 55:205-217, 1962.
- HOUSE, W. F., and E. WILLIAM. Transtemporal bone microsurgical removal of acoustic neuromas. *Mono. graph. Arch. Oto-Laryngol.* 80:1964.
- INNES, I. R., and M. NICKERSON. Drugs inhibiting the action of acetylcholine on structures innervated by postganglionic parasympathetic nerves (Antimuscarinic or atropinic drugs). In: *The pharmacological basis of therapeutics*. Editet L. S. Goodman and A. Gilman, Kap. 25:521-545, the Macmillan Company, New York 1965. Zit. in R. D. Brown, E. A. Daigneault, and J. R. Pruett, 1969.
- Mac INTOSH, F. C. Effect of HC-3 on acetylcholine turnover. *Federation Proc.* 20:562-568, 1961.
- IURATO, S. Submicroscopic structure of the membranous labyrinth-II. The epithelium of Corti's organ. *Z. Zellforsch.* 53:259-298, 1961.
- IURATO, S. The sensory cells of the membranous labyrinth. *Arch. Otolaryngol.* 75:312-328, 1962.
- IURATO, S. Efferent fibers to the sensory cells of Corti's organ. *Exptl. Cell. Res.* 27:162-164, 1962.
- IURATO, S. Fibre efferenti dirette e crociate dalle cellule acustiche dell'organo del Corti. *Atti Soc. Ital. Anat.* 72:60(A), 1964.
- IURATO, S. (Editor). *Submicroscopic Structure of the Inner Ear*. London: Pergamon, 1967.
- IURATO, S., L. LUCIANO, E. PANNESE, and E. REALE. Histochemical localization of acetylcholinesterase (AChE) activity in the inner ear. *Acta Oto-Laryngol. Suppl.* 279:5-50, 1971.

- JASSER, A., and P. S. GUTH. The synthesis of acetylcholine by the olivocochlear bundle. *J. Neurochem.* 20:45-54, 1973.
- KANEKO, Y., and J. F. DALY. Acetylcholinesterase on the nerve endings of outer hair cells and the tunnel radial fibers. *Laryngoscope* 78:1566-1581, 1968.
- KATSUKI, Y., Y. TANAKA, and T. MIYOSHI. Action of acetylcholine on cochlear responses. *Nature* 207: 32-34, 1965.
- KATZ, B. *Nerv, Muskel und Synapse*. G. Thieme Verl. Stuttgart, 1971.
- KATZ, B., and R. MILEDI. The effect of calcium on acetylcholine release from motor nerve terminals. *Proc. Roy. Soc., Ser. B.* 161:496-503, 1965.
- KATZ, B., and R. MILEDI. The timing of calcium action during neuromuscular transmission. *J. Physiol.* 189: 535-544, 1967.
- KERKUT, G. A., and R. C. THOMAS. Acetylcholine and the spontaneous inhibitory postsynaptic potentials in the snail neurone. *Comp. Biochem. Physiol.* 8: 39-45, 1963.
- KIMURA, R., and J. WERSÄLL. Termination of the olivocochlear bundle in relation to the outer hair cells of the organ of Corti in guinea pig. *Acta Oto-Laryngol.* 55:11-32, 1962.
- Mc KINSTY, D. H., and G. B. KOELLE. Inhibition of release of acetylcholine by strychnine and its implications regarding transmission by the olivo-cochlear bundle. *Nature* 213:505-506, 1967.
- KLINKE, R., G. BOERGER, and J. GRUBER. The alteration of afferent, tone-evoked activity of neurons of the cochlear nucleus, following acoustic stimulation of the contralateral ear. *J. Acoust. Soc. Am.* 45:788-789, 1969.
- KLINKE, R., G. BOERGER, and J. GRUBER. Studies on the functional significance of efferent activity as influenced by contralaterally applied sound. *Arch. Ges. Physiol.* 306:165-175, 1969.

- KLINKE, R., N. GALLEY. Efferent innervation of vestibular and auditory receptors. *Physiological Reviews* 54,2:316-357,1974.
- KLINKE, R., N. GALLEY, M. PAUSE, and W.-H. STORCH. Tetanus toxin blocks the efferent ending in the cochlea. *Brain Res.* 49:447-450,1973.
- KONISHI, T. Action of tubocurarine and atropine on the crossed olivocochlear bundles. *Acta Oto-Laryngol.* 74:252-264,1972.
- KONISHI, T., and E. KELSEY. Effect of calcium deficiency on cochlear potentials. *J. Acoust. Soc. Am.* 47:1055-1062,1970.
- KONISHI, T., and J. SLEPIAN. Summating potential with electrical stimulation of crossed olivocochlear bundles. *Science* 172:483-484,1971.
- KONISHI, T., and J. SLEPIAN. Effects of the electrical stimulation of the crossed olivocochlear bundle on cochlear potentials recorded with intracochlear electrodes in guinea pigs. *J. Acoust. Soc. Am.* 49:1762-1769,1971.
- La GRUTTA, V., and J. E. DESMEDT. Contrastes entre les actions centrales de la coniine et de la strychnine. *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 151:289-296,1964.
- Mc LENNAN, H. Synaptic transmission. Saunders Philadelphia, 1963.
- LEWIS, P. R., C. C. D. SHUTE, and A. SILVER. Confirmation from choline acetylase analysis of a massive cholinergic innervation to the rat hippocampus. *J. Physiol., London* 191:215-224,1967.
- MARTIN, A. R., and R. K. ORKAND. Postsynaptic action of HC-3 on neuromuscular transmission. *Federation Proc.* 20:579-582,1961.
- MOSCOVITCH, D. H., and R. P. CANNON. Effects of calcium on sound-evoked cochlear potentials in the guinea pig. *J. Acoust. Soc. Am.* 40:583-590,1966.
- NIEDER, P., and I. NIEDER. Antimasking effect of crossed olivocochlear bundle stimulation with loud clicks in guinea pig. *Exptl. Neurol.* 28:179-188,1970.

- NOMURA, Y., and H. F. SCHUKNECHT. The efferent fibers in the cochlea. *Ann. Otol.* 74:289-302, 1965.
- OBATA, K., M. ITO, R. OCHI, and N. SATO. Pharmacological properties of the postsynaptic inhibition by Purkinje cell axons and the action of γ -aminobutyric acid on Deiters neurones. *Exptl. Brain Res.* 4:43-57, 1967.
- OTSUKA, M., L. L. IVERSEN, Z. W. HALL, and E. A. KRAVITZ. Release of gamma aminobutyric acid from inhibitory nerves of lobster. *Proc. nat. Acad. Sci.* 56:1110-1115, 1966.
- PATON, W. D. M. Central and synaptic transmission in the nervous system (Pharmacological aspects). *Ann. Rev. Physiol.* 20:431-470, 1958.
- PFALZ, R. K. J. Absence of a function for the crossed olivocochlear bundle under physiological conditions. *Arch. Klin. Exptl. Ohr-, Nas.-Kehlk. Heilk.* 193: 100, 1969.
- PHILLIS, J. W., and D. H. YORK. Strychnine block of neural and drug-induced inhibition in the cerebral cortex. *Brain Res.* 10:297-306, 1968.
- PHILLIS, J. W. The pharmacology of synapses. Pergamon Press, Oxford, 1970.
- RASMUSSEN, G. L. An efferent cochlear bundle. *Anat. Record* 82:441, 1942.
- RASMUSSEN, G. L. The olivary peduncle and other fiber projections of the superior olivary complex. *J. Comp. Neurol.* 84:141-219, 1946.
- RASMUSSEN, G. L. Efferent fibers of the cochlear nerve and cochlear nucleus. In: *Neural Mechanisms of the Auditory and Vestibular Systems*, edited by G. L. Rasmussen and W. F. Windle. Springfield, III.: Thomas, 1960, p. 105-115.
- RASMUSSEN, G. L. Anatomic relationships of the ascending and descending auditory systems. In: *Neurological Aspects of Auditory and Vestibular Disorders*, edited by W. S. Fields and B. R. Alford. Springfield, III.: Thomas, 1964, p. 5-23.

RASMUSSEN, G. L. Cited in ROSSI, G. Dispositivi di controllo a livello della giunzione citoneurale e della via cochleare centrale e centri e vie di coordinamento intranervrassiali. In: Le Basi Morfo-Functionalì del Controlle della Sensazioni acustiche, edited by G. Filogameo, L. Candiollo, and G. Rossi. Soc. Ital. Laringol. Otol. Rhinol. Torino, 1965, p. 41-116.

RAUCH, S. Entstehung, Transport und Resorption der Innenohrflüssigkeiten. In: Biochemie des Hörorgans Hrsg. S. Rauch, G. Thieme Verlag Stuttgart, 1966, p. 278-315.

RAUCH, S., und A. KÖSTLIN. Chemische Ergebnisse der Innenohrflüssigkeiten. In: Biochemie des Hörorgans. Hrsg. S. Rauch, G. Thieme Verlag Stuttgart, 1964, p. 211-236.

RODRÍGUEZ ECHANDÍA, E. L. An electron microscopic study on the cochlear innervation. I. The recepto-neural junctions at the outer hair cells. Z. Zellforsch. 78:30-46, 1967.

RODRÍGUEZ ECHANDÍA, E. L. An electron microscopic study on the cochlear innervation. II. The intra-epithelial nerve fibers, the neuro-neural synapses and the recepto-neural junctions at the inner hair cells. Z. Zellforsch. 85:183-195, 1968.

ROSSI, G. L'acétylcholinesterase au cours du développement de L'oreille interne du cobaye. Acta Oto-Laryngol, Suppl. 170:7-84, 1961.

ROSSI, G., and G. CORTESINA. The efferent innervation of the inner ear. Panminerva Med. 4:478-500, 1962.

ROSSI, G., and G. CORTESINA. Research on the efferent innervation of the inner ear. J. Laryngol. 77:202-233, 1963.

ROSSI, G., and G. CORTESINA. The efferent innervation of the inner ear. A historical-bibliographical survey. Laryngoscope 75:212-235, 1965.

RUSSELL, I. J. Influence of efferent fibers on an receptor. Nature 219:177-178, 1968.

- SCHUELER, F. W. The mechanism of action of the hemicholinium. Intern. Rev. Neurobiol. 2:77-97, 1960.
- SCHUKNECHT, H. F., J. A. CHURCHILL, and R. DORAN. The localization of acetylcholinesterase in the cochlea. Arch. Otolaryngol. 69:549-599, 1959.
- SMITH, C. A. Innervation pattern of the cochlea. The internal hair cell. Ann. Otol. 70:504-527, 1961.
- SMITH, C. A. Innervation of the cochlea. Rev. Panam. Otorrinolaringol. Broncofagol. 1:77-91, 1967.
- SMITH, C. A. Electron microscopy of the inner ear. Ann. Otol. 77:629-644, 1968.
- SMITH, C. A. Morphological features of axo-dendritic relationships between efferent and cochlear nerves in the cochlea of mammal and pigeon. In: Wenner-Gren Ctr. Intern. Symp. Ser. Structure and Function of Inhibitory Neuronal Mechanisms. edited by C. von Euler, S. Skoglund, and U. Söderberg. Oxford: Pergamon, 1968, vol 10, p. 141-146.
- SMITH, C. A., and E. W. DEMPSEY. Electron microscopy of the organ of Corti. Am. J. Anat. 100:337-367, 1957.
- SMITH, C. A., and G. L. RASMUSSEN. Recent observations on the olivo-cochlear bundle. Ann. Otol. 72:489-506, 1963.
- SMITH, C. A., and G. L. RASMUSSEN. Degeneration in the efferent nerve endings in the cochlea after axonal section. J. Cell Biol. 26:63-77, 1965.
- SMITH, C. A., and F. S. SJÖSTRAND. Structure of the nerve endings on the external hair cells of the guinea pig cochlea as studied by serial sections. J. Ultrastruc. Res. 5:523-556, 1961.
- SMITH, C. A., and F. S. SJÖSTRAND. A synaptic structure in the hair cells of the guinea pig cochlea. J. Ultrastruc. Res. 5:184-192, 1961.
- SOHMER, H. The effect of contralateral olivo-cochlear bundle stimulation on the cochlear potentials evoked by acoustic stimuli of various frequencies and intensities. Acta Oto-Laryngol. 60:59-70, 1965.

- SOHMER, H. A comparison of the efferent effects of the homolateral and contralateral olivo-cochlear bundles. *Acta Oto-Laryngol.* 62:74-87, 1966.
- SOHMER, H., and M. FEINMESSER. Studies on the influence of acetylcholine, eserine and atropine on cochlear potentials, in the guinea pig and the cat. *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 144:446-453, 1963.
- SPOENDLIN, H. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Cortischen Organ des Meerschweinchens. *Prakt. Oto-Rhino-Laryngol.* 19:192-234, 1957.
- SPOENDLIN, H. Submikroskopische Organisation der Sinneselemente im Cortischen Organ des Meerschweinchens. *Prakt. Oto-Rhino-Laryngol.* 21:34-48, 1959.
- SPOENDLIN, H. Submikroskopische Strukturen im Cortischen Organ der Katze. *Acta Oto-Laryngol.* 52: 111-130, 1960.
- SPOENDLIN, H. Structural features of the organ of Corti. *Trans. Am. Otol. Soc.* 50:61-82, 1962.
- SPOENDLIN, H. The organization of the cochlear receptor. In: *Fortschritte der Hals-, Nasen- Ohrenheilk.*, edited by L. Rüudi, Basel: Karger 1966, vol. 13.
- SPOENDLIN, H. Innervation patterns in the organ of Corti of the cat. *Acta Oto-Laryngol.* 67:239-254, 1969.
- SPOENDLIN, H. Structural basis of peripheral frequency analysis. In: *Frequency Analysis and Periodicity Detection in Hearing*, edited by R. Plomp and G. F. Smoorenburg. Leiden: Sijthoff, 1970, p. 2-40.
- SPOENDLIN, H. Degeneration behaviour of the cochlear nerve. *Arch. Klin. Exptl. Ohr-, Nas.- Kehlk. Heilk.* 200:275-291, 1971.
- SPOENDLIN, H. Innervation densities of the cochlea. *Acta Oto-Laryngol.* 73:235-248, 1972.
- SPOENDLIN, H., and R. R. GACEK. Electromicroscopic study of the efferent and afferent innervation of the organ of Corti in the cat. *Ann. Otol.* 72:660-686, 1963.

- SØRENSEN, H. Auditory adaption in nerve action potentials recorded from the cochlea in guinea pigs. *Acta Oto-Laryngol.* 50:438-450, 1959.
- STEINER, F. A. Neurotransmitter und Neuromodulation. G. Thieme Verl. Stuttgart, 1971.
- STEVENS, Ch. F. Synaptic physiology. *Proc. JEE* 56: 916-930, 1968.
- TANAKA, Y., and Y. KATSUKI. Pharmacological investigations of cochlear responses and of olivo-cochlear inhibition. *J. Neurophysiol.* 29:94-108, 1966.
- THIES, R. E., and V. B. BROOKS. Postsynaptic neuromuscular block produced by hemicholinium no. 3. *Federation Proc.* 20:569-578, 1961.
- TRAHIOTIS, C., and D. N. ELLIOTT. Behavioral investigation of some possible effects of sectioning the crossed olivocochlear bundle. *J. Acoust. Soc. Am.* 47:592-596, 1970.
- TRAUTWEIN, W. und J. DUDEL. Zum Mechanismus der Membranwirkung des Acetylcholin an der Herzmuskelfaser. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 266:324-334, 1958.
- UCHIZONO, K., Y. NOMURA, and K. KOSAKA. Localization of acetylcholinesterase activity in the efferent fiber of the human cochlea. *J. Physiol. Soc. Japan* 29:241-242, 1967.
- WARD, W. D. Further observation on contralateral remote masking and related phenomena. *J. Acoust. Soc. Am.* 42:593-600, 1967.
- WASER, P. G. Struktur und Wirkung des Muscarins, des Muscarons und ihrer Stereoisomeren. *Experientia Basel* 14:356-358, 1958.
- WERMAN, R., R. A. Davidoff, and M. H. APRISON. Glycine and postsynaptic inhibition in cat spinal cord. *Physiologist* 9:318, 1966.
- WERSÄLL, J. Efferent innervation of the inner ear. In: *Structure and Functions of the Inhibitory Neuronal Mechanisms*, edited by C. von Euler, S. Skoglund, and U. Söderberg. Oxford: Pergamon 1968, p. 123-139.

- WERSÄLL, J., Å. FLOCK, and P.-G. LUNDQUIST. Structural basis for directional sensitivity in cochlear and vestibular sensory receptors. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 30:115-132, 1965.
- WERSÄLL, J., D. A. HILDING, and P.-G. LUNDQUIST. Ultrastruktur und Innervation der cochleären Haarzellen. Arch. Ohr-, Nas.-Kehlk. Heilk. 178:106-126, 1961.
- WHITAKER, V. P. Synaptic transmission. Proc. nat. Acad. Sci. 60, 1968.
- WIEDERHOLD, M. L. A Study of Efferent Inhibition of Auditory Nerve Activity (PhD Thesis). Massachusetts Inst. Technol., 1967.
- WIEDERHOLD, M. L. Variations in the effects of electric stimulation of the crossed olivocochlear bundle on cat single auditory-nerve fiber responses to tone burst. J. Acoust. Soc. Amer. 48:966-977, 1970.
- WIEDERHOLD, M. L., and E. K. CHANCE. Effects of olivocochlear bundle stimulation on acoustically evoked potentials. Mass. Inst. Technol. Res. Lab. Electron. Tech. Rept. 70:311-315, 1963.
- WIEDERHOLD, M. L., and N. Y. S. KIANG. Effects of electric stimulation of the crossed olivocochlear bundle on single auditory-nerve fibers in the cat. J. Acoust. Soc. Am. 48:950-965, 1970.
- WIEDERHOLD, M. L., and W. T. PEAKE. Efferent inhibition of auditory-nerve responses. Dependence on acoustic-stimulus parameters. J. Acoust. Soc. Am. 40:1427-1430, 1966.
- WRIGHT, C. G., and R. E. PRESTON. Degeneration and distribution of efferent fibers in the guinea pig organ of Corti. A light and scanning electron microscopic study. Brain Res. 58:37-59, 1973.

Die Experimente für die vorliegende Arbeit wurden unter Leitung von Prof. Dr. R. Klinke am Institut für Physiologie der Freien Universität Berlin durchgeführt. Herrn Prof. Klinke danke ich für die Überlassung des Themas und besonders für die Anleitung zu wissenschaftlichem Arbeiten.

Herrn Dipl. Psych. N. Galley und Herrn cand. med. M. Pause bin ich für ihre freundschaftliche Hilfe bei der Durchführung der Versuche dankbar.

Frau A. Thiele danke ich für die zuverlässige Hilfe bei der Präparation der Versuchstiere.

Die Versuche mit Hemicholin wurden in Zusammenarbeit mit Herrn cand. med. W. Oertel durchgeführt.

L E B E N S L A U F

Ich, Wulf-Hinrich Storch wurde am 22.4.1948 als Sohn des Facharztes für innere Krankheiten Dr. med. Harald Storch und der Kinderärztin Dr. med. Else Storch geb. Kramer in Verden geboren. 1955 wurde ich in die Volksschule aufgenommen. Von 1959 bis 1967 besuchte ich das Domgymnasium Verden, an dem ich 1967 das Abitur auf der humanistischen Abteilung bestand. Im WS 1967/68 begann ich mit dem Studium der Medizin, das ich im SS 1973 an der Freien Universität Berlin mit dem ärztlichen Staatsexamen abschloß. Seit dem SS 1970 studierte ich Psychologie und konnte nach dem WS 1974/75 in diesem Fach das Diplom erwerben. 1974 arbeitete ich als Medizinalassistent in der psychiatrischen Abteilung des Landeskrankenhauses Göttingen. Seit 1973 bin ich verheiratet.

